

Avaliação da atividade hidratante e protetora da barreira cutânea de produto para uso tópico contendo isomerato de sacarídeo e hidroxietil ureia

Evaluation of the moisturizing and protective activity of a topical product containing saccharide isomerate and hydroxyethyl urea, on the skin barrier

DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201810311039>

RESUMO

Introdução: As proteínas envolvidas no processo de diferenciação epidérmica apresentam papel fundamental para a retenção de água e manutenção da camada córnea.

Objetivo: Avaliar a compactação da barreira cutânea e expressão proteica de filagrina, involucrina, loricrina e esfingomiéline após utilização de creme hidratante contendo isomerato de sacarídeo e hidroxietil ureia.

Material e Métodos: Foram realizadas avaliações *ex vivo* em cultura de pele e imunofluorescência para determinação das proteínas e análise *in vitro* com tecido cultivado em meio de cultura e cortes histológicos que foram comparados com um grupo-controle.

Resultados: Na avaliação *ex vivo* os marcadores das proteínas aumentaram no grupo tratado com o creme hidratante, em comparação ao modelo de cultura de pele com dermatite atópica. Na avaliação *in vitro* foi observada melhora na compactação da barreira cutânea com a aplicação do creme sobre um modelo tridimensional de epiderme reconstituída, em comparação ao controle.

Conclusões: O creme hidratante promoveu aumento significativo da produção de filagrina, involucrina e loricrina, assim como da compactação da barreira cutânea, sugerindo, assim, efeito positivo na hidratação cutânea e proteção da barreira cutânea, preservando e restaurando a pele.

Palavras-Chave: Agentes molhantes; Aminoácidos; Carboidratos; Creme para a pele; Hidratação; Higiene da pele; Pele; Peptídeos; Proteínas; Queratinas; Ureia

ABSTRACT

Introduction: The proteins involved in the process of epidermal differentiation play a key role in retention of water and maintenance of the stratum corneum.

Objective: To assess the compaction of the skin barrier and protein expression of filaggrin, involucrin, loricrin and sphingomyelin after the use of a moisturizing cream containing saccharide isomerate and hydroxyethyl urea.

Materials and methods: *Ex vivo* evaluations were performed in skin culture in addition to immunofluorescence in order to identify proteins, as well as *in vitro* analysis with tissue culture in culture medium and histological sections, all of which compared with a control group.

Results: In the *ex vivo* evaluation, the protein markers increased in the group treated with the moisturizing cream as compared to the skin culture model with atopic dermatitis. In the *in vitro* evaluation, it was possible to observe an improvement in the skin barrier compaction with the application of the cream on a reconstituted three-dimensional epidermis model, as compared with the control.

Conclusions: The moisturizing cream promoted a significant increase in the production of filaggrin, involucrin and loricrin, as well as in the compaction of the skin barrier, thus suggesting a positive effect on skin hydration and protection of the cutaneous barrier, preserving and restoring the skin.

Keywords: Administration; Amino acids; Carbohydrates; Cutaneous; Fluid therapy; Keratins; Keratinocytes; Skin; Skin care; Skin cream; Peptides; Proteins; Urea; Wetting agents

Artigo Original

Autores:

Samanta Nunes¹
Juliana Cotta Vieira²
Camila Sirieiro Abreu Melo³

¹ Corium Dermatologia - São Paulo (SP), Brasil

² Farmoquímica - Rio de Janeiro (RJ), Brasil

³ Departamento de pesquisa clínica, Farmoquímica - Rio de Janeiro (RJ), Brasil

Correspondência:

Camila Sirieiro Abreu Melo
Rua Viúva Claudio, 300 -
Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

Email: cabreu@fqm.com.br

Data de recebimento: 29/06/2017

Data de aprovação: 02/09/2018

Trabalho realizado em Kosmoscience Ciência & Tecnologia Cosmética Ltda - Campinas (SP), Brasil. (Estudo pré-clínico de eficácia *in vitro* por imunofluorescência) e a Tridskin Laboratórios Ltda - São Paulo (SP), Brasil (avaliação *in vitro* da barreira cutânea em modelo de epiderme).

Suporte Financeiro: O estudo recebeu suporte financeiro do laboratório Farmoquímica S/A.

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



INTRODUÇÃO E OBJETIVO

A barreira cutânea é importante meio de proteção e defesa da pele, regulando a perda de água transepidérmica e impedindo a agressão de agentes externos, como microrganismos.¹⁻³ O estrato córneo é o principal componente dessa barreira e tem como base a estrutura “parede de tijolos”, em que os tijolos são os corneócitos, e o cimento, os lipídeos.^{1,4} Esse modelo é aceito como o mais adequado para a compreensão do arranjo celular e dos trajetos tortuosos para a permeabilidade cutânea.⁴⁻⁶ O estrato córneo é estrutura metabolicamente ativa que exerce funções adaptativas, com grande interação com as camadas epidérmicas subjacentes. Fisiologicamente, a formação do estrato córneo se dá por uma sequência de eventos: a membrana celular do queratinócito da camada granulosa torna-se mais permeável a íons, especialmente, o cálcio, que, ativando as peptidases, converte a pró-filagrina em filagrina.⁶

Proteínas de Relevância Funcional da Barreira Cutânea (Filagrina, Involucrina e Loricrina): Durante a diferenciação epidérmica, diversas proteínas estão envolvidas na formação do envelope córneo, entre elas, loricrina, involucrina, filagrina e queratinas.⁷ A filagrina é proteína contida nos grânulos de querato-hialina, que ativa as enzimas trigliceridase e agrega os filamentos de queratina em macrofibrilas; depois, essa proteína é degradada em aminoácidos livres que, mais tarde, são utilizados na constituição do fator de hidratação natural ou convertidos em ácido urocânico ou ácido pirrolidônico carboxílico (PCA).⁴ Ela é originada da pró-filagrina, produzida pelos queratinócitos, e é o principal componente dos grânulos de querato-hialina visualizados por meio da microscopia óptica na camada granulosa. A conversão da pró-filagrina em filagrina, ambas proteínas intracelulares, ocorre por meio da desfosforilação e da proteólise por serinoproteases, liberando múltiplos monômeros ativos de filagrina. Com a diminuição do gradiente hídrico nas camadas mais externas da epiderme, ocorre a hidrólise da filagrina em aminoácidos higroscópicos.^{1,8-10} A filagrina é responsável por agregar a queratina e outras proteínas nas camadas mais superficiais da epiderme para a formação do estrato córneo; o processo de conversão da pró-filagrina em filagrina mantém a integridade da epiderme.^{4,11} Com a degeneração do núcleo celular, as células se tornam achatadas, e as moléculas de queratina se alinham em paralelo, criando um envelope corneificado conectado com os lipídeos extracelulares. A força de coesão dessa camada depende da formação de ligações covalentes de glutamina, em que proteínas precursoras são incorporadas à queratina: involucrina, SPRP (pequenos peptídeos ricos em prolina ou *small proline-rich peptides*), cornifina, loricrina, queratolinina e proteínas desmossômicas, como a envoplaquina e a perioplaquina. Os corpos lamelares, provindos da camada granulosa, também contribuem para a formação da matriz lipídica onde estão os corneócitos. Qualquer perturbação da barreira cutânea desencadeia uma resposta de reparação com duração de dias ou horas, conforme a intensidade do estímulo. Há, inicialmente, a secreção de um *pool* de corpos lamelares pré-formados, seguida de aumento da síntese de colesterol e ácidos graxos livres, além de ceramidas; paralelamente, há aumento de enzimas e dos níveis de RNAm para essas mesmas enzimas, com

ativação primária por fosforilação da HMGCoA redutase e das *sterol regulatory element binding proteins* (SREBPs) como reguladoras da síntese do colesterol e ácidos graxos epidérmicos.^{4,11} Loricrina e involucrina são importantes proteínas que facilitam a diferenciação terminal da epiderme e a formação da barreira cutânea. A loricrina humana é proteína insolúvel, inicialmente expressa na camada granular da epiderme durante a cornificação, e compreende 80% da massa proteica total do envelope corneificado. Além disso, funciona como proteína de reforço principal para o estrato córneo. Involucrina também é componente comum do estrato córneo e proporciona um esqueleto ao qual outras proteínas subsequentemente se tornam reticuladas. Na estrutura do envelope corneificado, a involucrina é adjacente à membrana celular e forma sua superfície exterior. Estudos atuais investigaram a expressão de loricrina e involucrina em lesões da pele eczematosa e pele não lesionada de indivíduos com dermatite atópica e demonstraram que essa expressão gênica é regulada por citocinas e interleucinas IL-4 e IL-13, sugerindo que a sensibilização cutânea por vários alérgenos e patógenos na dermatite atópica ocorra, em parte, devido a um defeito na barreira e possa resultar em inflamação e infecção cutâneas.¹² A corneificação é caracterizada pela eliminação de todas as organelas e do núcleo, pela agregação de filamentos intermediários para formar uma matriz fibrosa intracelular e pela montagem de uma proteína resistente na periferia dos queratinócitos, o envelope de células corneificadas. Ao mesmo tempo, os desmossomas e as estruturas de junção intercelular são transformados em corneodesmossomas após a adição de corneodesmosina. Trata-se de uma rede de proteínas complexas, altamente insolúveis, de 15nm de espessura, com monocamada de ω -hidroxiferamidas unidas a sua superfície extracelular. O envelope celular substitui a membrana plasmática de queratinócitos terminalmente diferenciados. É o resultado da formação de ligações isopeptídicas de ϵ -(γ -glutamil) lisina muito estáveis – entre vários precursores de natureza proteínica, incluindo involucrina e loricrina. Essa reação é catalisada por enzimas dependentes de cálcio denominadas transglutaminases. O envelope de células corneificadas, juntamente com corneodesmossomas, é crítico para as funções de barreira do estrato córneo, uma vez que confere resistência à camada. Além disso, está envolvido na organização estrutural dos lipídeos que enchem os espaços intercorneócitos na forma de lamelas após sua secreção por corpos lamelares. Essa matriz hidrofóbica extracelular, enriquecida em colesterol, ceramidas e ácidos graxos livres, desempenha papel importante na proteção da camada córnea.¹¹ O complexo hidratante proporcionado pela composição da substância teste – Dermovance S (Farmaquímica S/A, São Paulo, Brasil – melhora sua capacidade de retenção de água na barreira epidérmica (higroscopia), podendo também prevenir irritações.¹²

Para avaliar a atividade hidratante e protetora da barreira cutânea, foram realizadas avaliações *ex vivo* e *in vitro* com o produto.

Avaliação *ex vivo*: O estudo teve como objetivo primário avaliar a eficácia pré-clínica do produto na hidratação e proteção da barreira cutânea e como objetivo secundário avaliar a expres-

são proteica de filagrina, involucrina, loricrina e esfingomielin sintase por imunofluorescência em modelo de dermatite atópica em pele *ex vivo*.

Avaliação *in vitro*: Avaliar a compactação da barreira cutânea da epiderme equivalente humana por histologia após a aplicação do produto em comparação com a epiderme não tratada (grupo controle).

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação *ex vivo*:

Cultura de pele humana: Os fragmentos de pele utilizados neste estudo foram provenientes de uma pessoa sadia, do sexo feminino, fototipo III, 48 anos, submetida à cirurgia plástica eletiva na região abdominal (abdominoplastia). Após a realização do procedimento cirúrgico os fragmentos de pele foram coletados em frascos plásticos contendo soro fisiológico 0,9% e mantidos em refrigeração por até 24 horas. Esse projeto não contemplou o armazenamento e estocagem do material biológico para uso futuro, sendo que os fragmentos sobressalentes foram descartados apropriadamente como lixo infectante. A utilização de fragmentos de pele humana provenientes de cirurgias eletivas para realização deste estudo foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade São Francisco – SP (CAAE: 55951916.9.0000.5514).

Protocolo de tratamento dos fragmentos de pele e indução de DA: Os fragmentos de pele foram fracionados em pedaços de aproximadamente 1,5cm², acondicionados em placas de culturas (NUNC, Thermo Fisher Scientific), e tratados com o produto na proporção de 25–30mg/cm², massageados durante 30 segundos e mantidos em incubadora a 37°C em presença de 5% de CO₂ pelo período de 24 horas prévias à indução de DA e adicionais 48 horas durante o protocolo de indução. Para a indução de dermatite atópica em pele *ex vivo* foi realizado o rompimento da barreira epidérmica com lauril sulfato de sódio (SDS) 4%, para posterior exposição ao extrato do ácaro *Dematophagoides farinae* (Df) (*International Pharmaceutical Immunology do Brasil Ltda*) na concentração de 20.175UBE.

Imunofluorescência: Após tratamento, os fragmentos de pele *ex vivo* foram fixados em paraformaldeído 4% (pH 7,4) durante 24 horas e crioprotetidos em solução de sacarose 30% por 72 horas. Em seguida, cortes seriados de 10µm foram coletados diretamente em lâminas sinalizadas com o auxílio de Criostato (Leica). Ao término da confecção dos cortes, eles foram submetidos a lavagens com tampão fosfato PB 0,1M e incubados *overnight* com anticorpos primários antifilagrina (Novus), anti-involucrina (Bioss), antiloricrina (Novus) e anti-esfingomielin sintase (Bioss). Posteriormente, os cortes foram submetidos a novas lavagens com PB 0,1M e incubados durante uma hora com anticorpo secundário Alexa Flour 488 – Goat anti Rabbit (*Thermo Fisher Scientific*). Imediatamente após o término das etapas anteriormente descritas, foi realizada nova incubação (um minuto) com Dapi (4'-6-Diamidino-2-Fenilindol; marcador de DNA; Sigma) seguida de três lavagens de dez minutos com PB 0,1M.

As lâminas foram montadas em meio de montagem específico e analisadas em microscópio de fluorescência (Olympus) com auxílio do *software* cellSens Standard (©2010 OLYMPUS CORPORATION). O parâmetro avaliado foi a intensidade de fluorescência emitida pela marcação com anticorpo específico. Após a obtenção das imagens, a intensidade de fluorescência foi quantificada com auxílio do *software* ImageJ (Arbitrary Units –AU).

Análise estatística: Na avaliação estatística utilizou-se o teste Anova, que permitiu mensurar a variação dos resultados, comparando os dados entre os grupos. Em seguida foi aplicado o pós-teste Bonferroni, que reforçou e tornou ainda mais preciso o resultado apresentado no teste Anova. Foi utilizado o nível de significância de 5% (GraphPad Prism v6).

Avaliação *in vitro*:

Preparação da Epiderme Equivalente: Queratinócitos primários humanos (NHK) foram tripsinizados na passagem 1 e ressuspensos numa densidade de 2.000.000 em meio de crescimento. Essa suspensão celular foi transferida para a membrana de policarbonato, e essa membrana com os queratinócitos submergida em meio fresco. Em seguida, cada membrana com as células foi incubada durante 24 horas a 37°C a 5% CO₂. Após o período de incubação, os tecidos foram emergidos e cultivados em contato com ar-líquido durante mais 16 dias.

Aplicação da substância teste: A aplicação da substância teste pura sobre a epiderme equivalente pode levar à contaminação do tecido por micro-organismos, uma vez que a substância teste não passou por nenhum processo de esterilização. Por isso, foram realizados dois protocolos.

Protocolo A – sem filtração, com aplicação de 10µl de produto diretamente sobre a epiderme, a fim de reproduzir o uso normal do produto sobre a pele: após 16 dias de incubação, 10ul da substância teste pura (não filtrada) foi aplicada sobre a epiderme. Os tecidos tratados (com a substância teste) e não tratados (controle) foram incubados durante 15 minutos a 37°C e 5% de CO₂. Após esse período todos os tecidos foram lavados com solução tampão fosfato (PBS) e foram incubados durante mais cinco dias a 37°C e 5% de CO₂. Em seguida, os tecidos foram preparados para os cortes histológicos para avaliar o efeito na compactação da barreira cutânea na epiderme equivalente e comparados com o controle (sem produto ou não tratado).

Protocolo B – com filtração, diluindo o produto a 0,1mg/ml e 1mg/ml no meio de cultura: pesaram-se 30mg da substância teste que foram ressuspensas em 10ml de meio de cultura, obtendo-se suspensão de 3mg/ml da substância teste. A suspensão de 3mg/ml foi coada [pode ser? para evitar filtrada em filtro...] em filtro de 0,22µm, e dessa suspensão filtrada foram preparadas as soluções de 1mg/ml e 0,1mg/ml em meio de cultura. O meio de cultura dos tecidos foi substituído pelas soluções a 1mg/ml e 0,1mg/ml, utilizando meio de cultura normal para o tecido-controle. Em seguida, os tecidos tratados (com a substância teste) e não tratados (controle) foram incubados durante cinco dias a 37°C e 5% de CO₂. Após esse período, os tecidos foram preparados para os cortes histológicos a fim de avaliar o

efeito na compactação da barreira cutânea na epiderme equivalente e comparada com o controle (sem produto ou não tratado).

RESULTADOS

Avaliação *ex vivo*

Os resultados do estudo revelaram que o modelo experimental de dermatite atópica (DA) em pele *ex vivo* foi capaz de mimetizar de forma satisfatória as características da pele de um indivíduo com DA pela redução estatisticamente significativa na síntese de filagrina, involucrina e lorricrina ($p < 0,05$; 0,01 e 0,05, respectivamente) quando comparamos o grupo DA com o grupo-controle (Figuras 1, 2 e 3). Embora a redução de esfingomielina sintase não tenha sido significativa pelo método de semiquantificação por imunofluorescência, os resultados demonstraram tendência de redução nesse mediador (Figura 4). O sinal para os marcadores avaliados é revelado em verde nos cortes histológicos e apresenta marcação/distribuição localizada

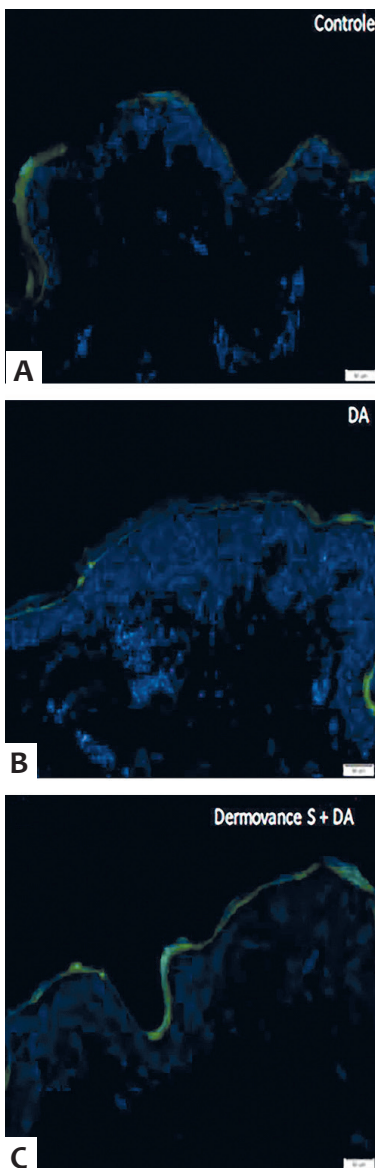


FIGURA 1: Avaliação fotográfica por imunofluorescência da síntese de filagrina em fragmentos de pele humana *ex vivo* incubados com a substância teste **A** - corte histológico de pele *ex vivo* sem tratamento (controle) **B** - corte histológico de pele *ex vivo* com DA **C** - corte histológico de pele *ex vivo* com DA tratada com a substância teste; a marcação em verde representa síntese da proteína filagrina, e a marcação em azul representa o núcleo celular (DNA); barra de referência corresponde a 50µm

na epiderme, especificamente na camada granulosa, bem como no estrato córneo. Conforme demonstrado nos gráficos 1, 2 e 3, a intensidade de marcação para filagrina, involucrina e lorricrina mostra-se fortemente aumentada no grupo tratado com a substância teste, em comparação ao modelo *ex vivo* de cultura de pele com dermatite atópica ($p < 0,05$, 0,01 e 0,05, respectivamente). Apesar do aumento na síntese de esfingomielina sintase não ser estatisticamente significativa (Gráfico 4), o tratamento com a substância teste demonstrou tendência no aumento desse mediador quando comparado ao grupo de DA.

Avaliação *in vitro*

Não foi observada contaminação por micro-organismos em nenhum dos tecidos utilizados, tanto no Protocolo A quanto no Protocolo B.

Protocolo A – A substância teste foi aplicada sem filtração, com aplicação de 10ul de produto diretamente sobre a

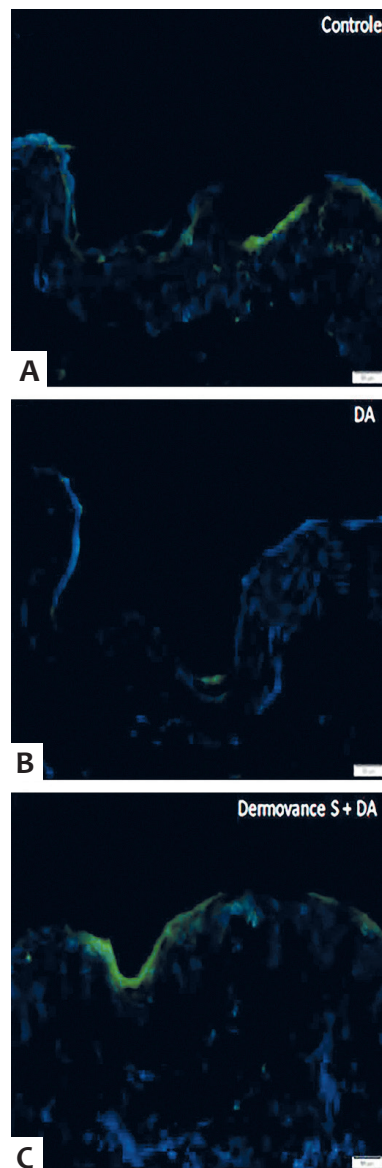


FIGURA 2: Avaliação fotográfica por imunofluorescência da síntese de involucrina em fragmentos de pele humana *ex vivo* incubados com a substância teste **A** - corte histológico de pele *ex vivo* sem tratamento (controle) **B** - Corte histológico de pele *ex vivo* com DA **C** - Corte histológico de pele *ex vivo* com DA tratada com a substância teste; a marcação em verde representa síntese da proteína involucrina, e a marcação em azul representa o núcleo celular (DNA); barra de referência corresponde a 50µm

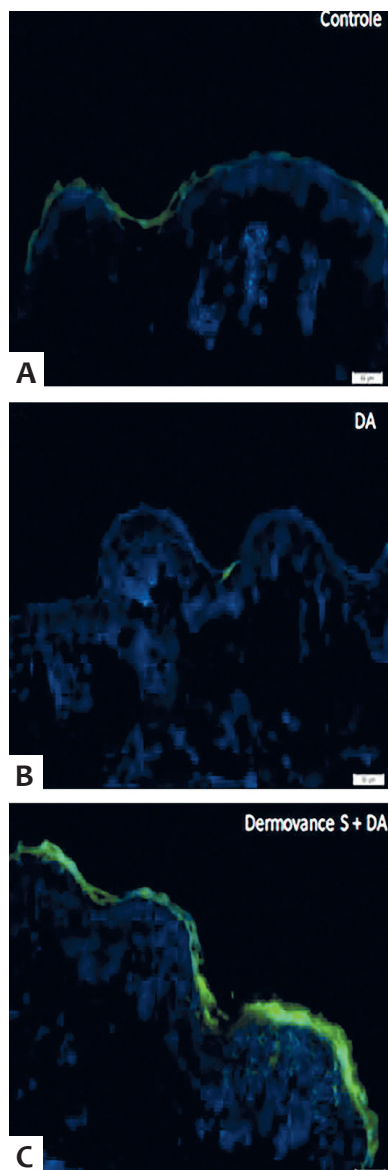


FIGURA 3: Avaliação fotográfica por imunofluorescência da síntese de loricrina em fragmentos de pele humana ex vivo incubados com a substância teste **A** - corte histológico de pele ex vivo sem tratamento (controle) **B** - corte histológico de pele ex vivo com DA **C** - Corte histológico de pele ex vivo com DA tratada com a substância teste; a marcação em verde representa a síntese da proteína loricrina e a marcação em azul representa o núcleo celular (DNA); barra de referência corresponde a 50µm

epiderme, a fim de reproduzir o uso normal do produto sobre a pele. Não houve melhora significativa na compactação do estrato córneo com a epiderme tratada com a substância teste em relação à epiderme não tratada (Figuras 5 A e B). O produto, entretanto, permaneceu entre o estrato córneo e a camada granulosa, formando uma película protetora na epiderme. A formação de película protetora é uma das maneiras de proteger a pele contra a perda excessiva de água para o meio ambiente.

Protocolo B – A substância teste foi ressuspensa a 3mg/ml e depois filtrada em filtro 0,22µm. Dessa ressuspensão foram feitas as diluições 0,1mg/ml e 1mg/ml em meio de cultura. No Protocolo B houve melhora na reorganização das camadas da epiderme quando a concentração da substância teste foi de 0,1mg/ml para 1mg/ml (Figuras 5 C e D). É possível observar alguns “espaços” vazios por entre as células das camadas da epiderme na figura 5C (controle). Esses espaços não são mais

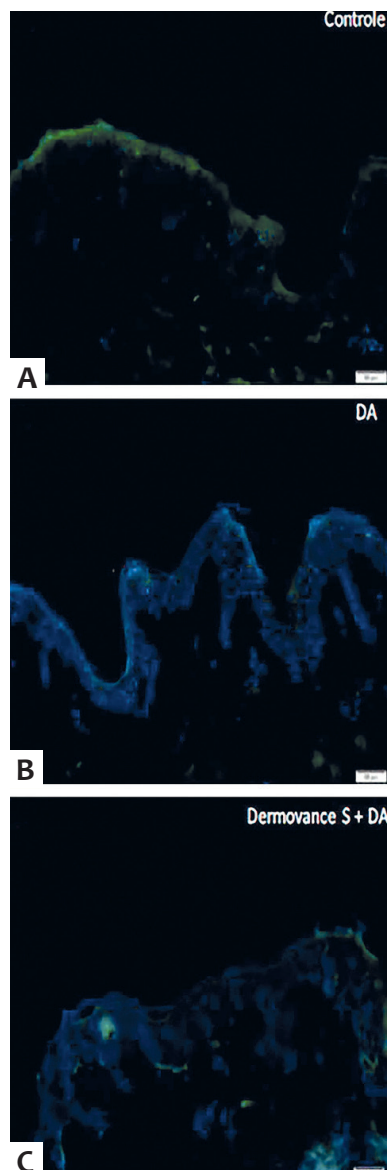


FIGURA 4: Avaliação fotográfica por imunofluorescência da síntese de esfingomielina sintase em fragmentos de pele humana ex vivo incubados com a substância teste **A** - corte histológico de pele ex vivo sem tratamento (controle) **B** - corte histológico de pele ex vivo com DA **C** - corte histológico de pele ex vivo com DA tratada com a substância teste; a marcação em verde representa a síntese da enzima esfingomielina sintase, e a marcação em azul representa o núcleo celular (DNA); barra de referência corresponde a 50µm

observados após o tratamento com a substância teste. O estrato córneo fica mais homogêneo, e a epiderme apresenta aparência mais saudável.

DISCUSSÃO

Alterações da barreira cutânea, de proteínas (como filagrina, involucrina e loricrina) ou de ceramidas anormais podem promover a xerose, predispondo ao desenvolvimento de prurido e microfissuras no epitélio.^{2,9} Filagrina, involucrina e loricrina contribuem para a formação de substâncias relevantes para a manutenção do pH, hidratação e proteção da pele contra agentes microbianos.^{1,9} Essas proteínas têm papel fundamental para a retenção de água no estrato córneo, diferenciação celular e manutenção da barreira da pele.^{8,13} Hidratantes restauram a capacidade das bicamadas lipídicas intercelulares absorvendo, retraindo e redistribuindo a água. Esses agentes podem penetrar e contri-

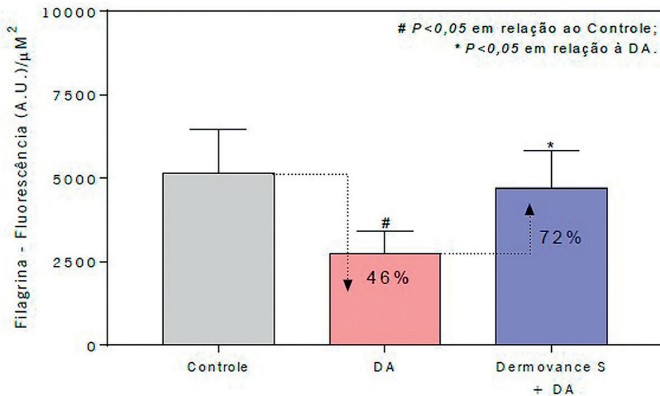


GRÁFICO 1: Semiquantificação da intensidade de fluorescência (Arbitrary Units – AU) da síntese de filagrina em fragmentos de pele humana *ex vivo* na presença ou ausência de DA, tratados ou não com a substância teste Os dados representam a média \pm desvio-padrão de cinco áreas experimentais (Anova, Bonferroni)

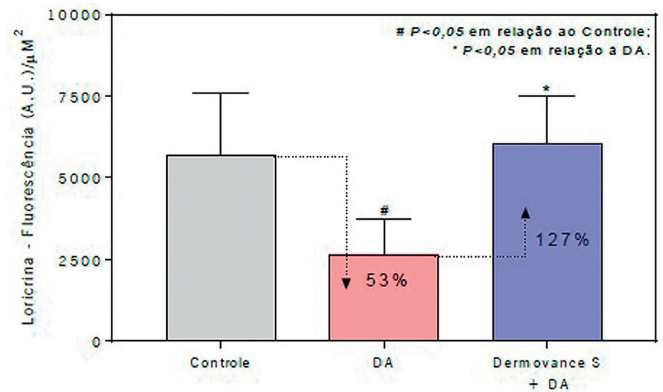


GRÁFICO 3: Semiquantificação da intensidade de fluorescência (Arbitrary Units – AU) da síntese de loricrina em fragmentos de pele humana *ex vivo* na presença ou ausência de DA, tratados ou não com a substância teste Os dados representam a média \pm desvio-padrão de cinco áreas experimentais (Anova, Bonferroni)

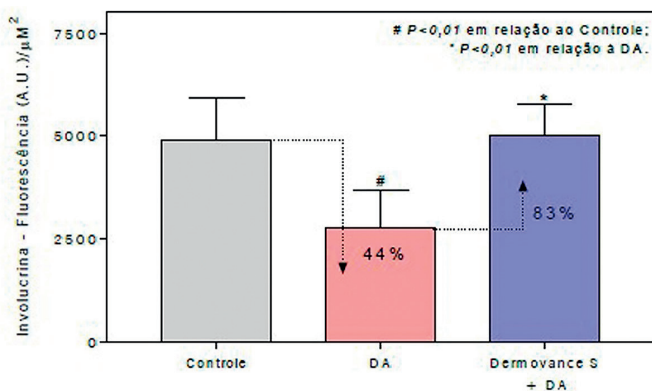


GRÁFICO 2: Semiquantificação da intensidade de fluorescência (Arbitrary Units – AU) da síntese de involucrina em fragmentos de pele humana *ex vivo* na presença ou ausência de DA, tratados ou não com a substância teste Os dados representam a média \pm desvio-padrão de cinco áreas experimentais (Anova, Bonferroni)

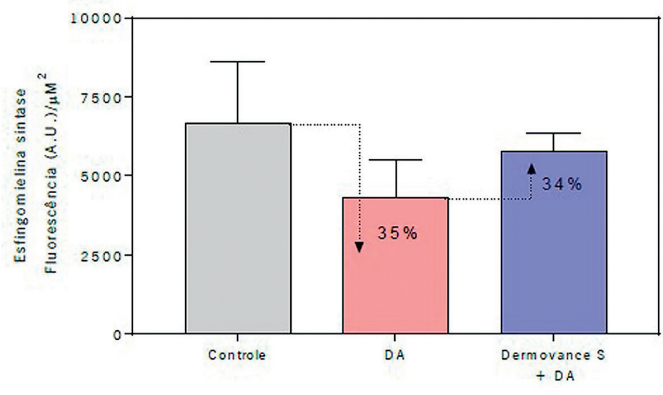


GRÁFICO 4: Semiquantificação da intensidade de fluorescência (Arbitrary Units – AU) da síntese de esfingomielina sintase em fragmentos de pele humana *ex vivo* na presença ou ausência de DA, tratados ou não com a substância teste Os dados representam a média \pm desvio-padrão de cinco áreas experimentais (Anova, Bonferroni)

buir para a reorganização da estrutura das camadas da pele. Os hidratantes podem ser divididos em vários grupos, como umectantes, oclusivos e emolientes, de acordo com os seus ingredientes, podendo apresentar mais de uma ação no mesmo produto.⁷ Cremes hidratantes são emulsões semissólidas (misturas de óleo e água) que são miscíveis em água. Eles são divididos em dois tipos: cremes óleo-água, que são compostos de pequenas gotas de óleo dispersos em uma fase contínua; e cremes de água em óleo, que são compostos de pequenas gotas de água dispersas em uma fase oleosa contínua. Os cremes de óleo em água são mais agradáveis, e cosmeticamente aceitáveis, uma vez que são menos gordurosos. Os emolientes são gorduras ou óleos em um sistema de duas fases (um líquido é disperso na forma de pequenas gotas em outro

líquido), que suavizam a pele formando uma película protetora sobre o estrato córneo, evitando o ressecamento por evaporação das camadas mais profundas da pele e tornando-a mais flexível.⁹ Como vimos, a filagrina é responsável por agregar a queratina e outras proteínas nas camadas mais superficiais da epiderme para a formação do estrato córneo, e a força de coesão dessa camada da pele depende de ligações covalentes de glutamina, em que proteínas precursoras como loricrina e involucrina são incorporadas à queratina.^{4,9} A literatura relata que na dermatite atópica ocorre a redução de importantes proteínas da barreira epidérmica, como a filagrina, a loricrina e a involucrina, assim como a redução da enzima esfingomielina sintase, que está diretamente relacionada com a síntese de ceramidas na pele. A manutenção da barreira

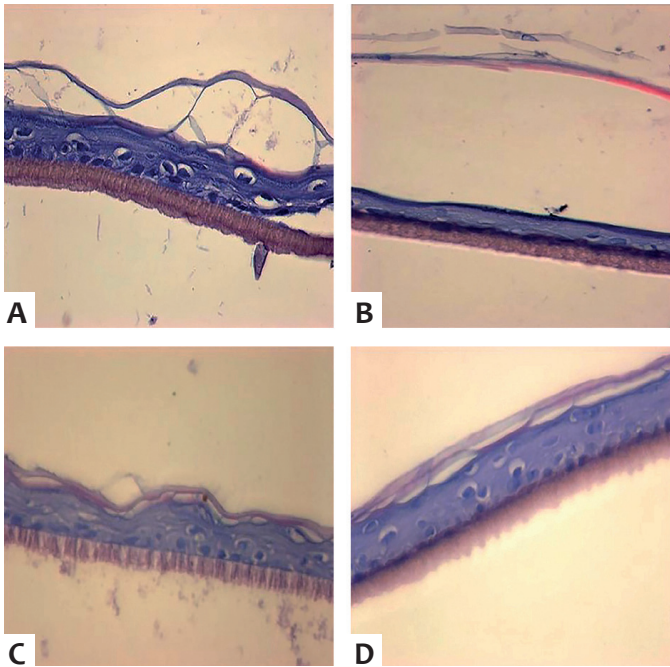


FIGURA 5: A - Amostra de tecido-controle corada com hematoxilina e eosina B - Amostra de tecido tratado com 10µl da substância teste pura (não filtrada) C - Amostra de tecido tratado com 0,1mg/ml da substância teste filtrada D - Amostra de tecido tratado com 1mg/ml da substância teste filtrada

cutânea ocorre por proliferação e diferenciação de queratinócitos, nas camadas da pele, que contêm queratinas e lipídeos para constituir o estrato córneo. Durante essa diferenciação terminal, os queratinócitos expressam várias proteínas como as queratinas,

pró-filagrinas, filagrinas, involucrinas, pequenas prolinas ricas em proteínas, loricrinas, cistatina A e elafina, que formam o envelope cornificado de corneócitos maduros.^{14,15} A estrutura lamelar do estrato córneo resulta de uma reorganização e acúmulo de organelas ricas em lipídeos, corpos lamelares, os quais são excretados para dentro dos espaços intercelulares na interface entre o estrato córneo e o estrato granuloso. Essa organização lipídica tem sido reportada por ser responsável pela função de barreira e a perda dessa estrutura lamelar após a aplicação de um solvente ou sua ausência em algumas doenças está associada à quebra das propriedades de barreira.¹⁶ Devido a esse fato, a compactação da barreira cutânea se torna importante a fim de evitar a entrada de micro-organismos e a perda de água transepidermica excessiva. Formulações cosméticas podem melhorar a função de barreira do estrato córneo mediante o fornecimento de moléculas de água e lipídeos.¹⁷

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, podemos concluir que o creme hidratante contendo isomerato de sacarídeo e hidroxietil ureia aumentou significativamente a produção de filagrina, involucrina e loricrina em modelo de pele *ex vivo* com dermatite atópica. Na avaliação *in vitro*, as imagens obtidas das amostras tratadas com a substância teste sugerem atuação na reestruturação das camadas da epiderme, na compactação do estrato córneo e formação de uma película protetora. Os resultados demonstrados nos dois estudos permitem inferir que o composto avaliado neste estudo, S, exerce efeito positivo na hidratação e proteção da barreira cutânea, protegendo e restaurando a pele. ●

REFERÊNCIAS

- Zaniboni MC, Samorano LP, Orfali RL, Aoki V. Skin barrier in atopic dermatitis: beyond filaggrin. *An Bras Dermatol.* 2016;91(4):472-8.
- Marie Lod'em. Role of Topical Emollients and Moisturizers in the Treatment of Dry Skin Barrier Disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2003;4(11):771-788.
- Giam YC, Hebert AA, Dizon MV, Bever HV, Tiongco-Recto M, Kim Kyu-ham, et al. A review on the role of moisturizers for atopic dermatitis. *Asia Pac Allergy.* 2016;6(2):120-128.
- Addor FAS, Aoki V. Skin barrier in atopic dermatitis. *An Bras Dermatol.* 2010;85(2):184-94.
- Norlén L. Current Understanding of Skin Barrier Morphology. *Skin Pharmacol Physiol.* 2013;26(4-6):213-6.
- Costa A, Eberlin S, Clerici SP, Abdalla BMZ. In vitro evaluation of four commercially available liquid soaps (in Brazil) for their anti-inflammatory and protective skin barrier qualities, as well as their impact on the reduction of cutaneous hypersensitivity. *Surg Cosmet Dermatol.* 2015;7(2):123-8.
- Dang NN, Pang SG, Song HY, AN Ig Ma XL. Filaggrin silencing by shRNA directly impairs the skin barrier function of normal human epidermal keratinocytes and then induces an immune response. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48(1):39-45.
- Hon KL, Leung AK, Barankin B. Barrier Repair Therapy in Atopic Dermatitis: An Overview. *Am J Clin Dermatol.* 2013;14(5):389-399.
- Armengot-Carbo M, Hernández-Martín A, Torrelo A. The Role of Filaggrin in the Skin Barrier and Disease Development. *Actas Dermosifiliogr.* 2015;106(2):86-95.
- Henry J, Toulza E, Chiung-Yueh H, Pellerin L, Balica S, Mazerreuw-Hautier J, et al. Update on the epidermal differentiation complex. *Frontiers in Bioscience.* 2012;17:1517-32.
- Addor FAS, Schalk S, Perreira VMC, Folino BB. The skin moisturizing effects of different concentrations of urea: a clinical and corneometry study. *Surg Cosmet Dermatol.* 2009;1(1):5-9.
- Kim BE, Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD. Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. *Clin Immunol.* 2008;126(3):332-7.

14. Candi E et al. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6: 328-340.
15. Matsui T, Schmidt R, Melino G. SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. *EMBO Molecular Medicine.* 2011;3(6): 320-33.
16. Holleran WM, Feingold KR, Gao WN, Lee JM, Elias PM. Regulation of epidermal sphingolipid synthesis by permeability barrier function. *J Lipid Res.* 1991;32(7):1151-8.
17. Valdman-Grinshpoun Y, Ben-Amitai D, Zvulunov A. Barrier-Restoring therapies in Atopic Dermatitis: current approaches and future perspectives. *Dermatol Res Pract.* 2012;2012: 923134.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES:

Samanta Nunes |  ORCID 0000-0001-5846-3372

Investigadora principal do estudo, autora principal do texto.

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

Co-investigadora do estudo, contribuiu com a revisão do artigo.

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

Co-investigadora do estudo, contribuiu com a revisão do artigo.