

Avaliação *in vivo* e *in vitro* da eficácia de um produto com associação de vitamina C, ácido hialurônico fragmentado e manose na prevenção do envelhecimento cutâneo

In vivo and in vitro evaluation of the cutaneous anti-aging efficacy of a product containing vitamin C, fragmented hyaluronic acid, and mannose

RESUMO

Introdução: O envelhecimento cutâneo é processo biológico complexo que se caracteriza por alterações não somente clínicas como também celulares. O uso de formulações tópicas eficazes no combate e prevenção do estresse oxidativo é de extrema importância para retardar a senescência celular.

Objetivo: Avaliar a eficácia *in vitro* e *in vivo* de formulação contendo vitamina C, ácido hialurônico fragmentado e manose na prevenção do envelhecimento cutâneo.

Métodos: Avaliações clínica, subjetiva e instrumental em 37 mulheres (média de idade: 46 anos) e avaliações comparativas *in vitro* da contração do equivalente dérmico.

Resultados: Melhor estatística nos parâmetros clínicos de hidratação, flacidez, luminosidade, uniformidade do tom e quantidade de rugas após três meses de tratamento. Redução de 12,6% no volume das rugas 30 minutos após a aplicação e de 17,8% após três meses de uso, por avaliação instrumental. Maior contração do equivalente dérmico, quando comparado a produto comercializado para redução de rugas contendo o ativo. **Conclusões:** O produto em teste mostrou-se eficaz no rejuvenescimento cutâneo, nas avaliações *in vivo*. Nos testes *in vitro*, observou-se aumento da produção de colágeno pela maior ativação de fibroblastos no equivalente dérmico.

Palavras-chave: envelhecimento da pele; ácido ascórbico; ácido hialurônico; manose

ABSTRACT

Introduction: Skin aging is a complex biological process that is characterized not only by clinical but also cellular alterations. The use of effective topical formulations for reducing and preventing oxidative stress is of utmost importance to delay cellular senescence.

Objective: To evaluate the *in vitro* and *in vivo* efficacy of a formulation containing vitamin C, fragmented hyaluronic acid and mannose, in the prevention of skin aging.

Methods: Clinical, subjective, and instrumental evaluations were carried out in 37 women (mean age: 46 years) and *in vitro* comparative evaluations of a dermal equivalent model contraction.

Results: Statistical improvement was observed in the clinical parameters of hydration, sagginess, brightness, uniformity of skin color and amount of wrinkles after 3 months of treatment. A reduction by 12.6% in the volume of wrinkles 30 minutes after application and by 17.8% after three months of use was also evidenced by instrumental evaluation. There was greater contraction of the dermal equivalent model when compared to a commercial product for wrinkle reduction containing the same active principle.

Conclusions: The product was proven effective in skin rejuvenation, by significantly reducing the amount of wrinkles. The *in vitro* study showed an increase in collagen synthesis, suggested by the greater activation of fibroblasts in the dermal equivalent model.

Keywords: skin aging; ascorbic acid; hyaluronic acid; mannose

Artigo Original

Autores:

Maria Helena Lesqueves Sandoval¹
Clarice Martins Caixeta²
Nathalia Meireles Ribeiro³

¹ Dermatologista, preceptora de cosmatria da residência médica do Hospital Cassiano Antônio de Moraes (Hucam) – Vitória (ES), Brasil.

² Farmacêutica, especialista em tecnologias industriais farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Departamento de Comunicação Científica La Roche-Posay Laboratoire Dermatologique.

³ Graduanda em farmácia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Departamento de Comunicação Científica La Roche-Posay – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Correspondência para:

Clarice Martins Caixeta
Rua São Bento, no 8, 10o andar. Centro. Rio de Janeiro/RJ. CEP 20090-010
E-mail: clarice.caixeta@gmail.com

Data de recebimento: 05/12/2014
Data de aprovação: 20/01/2015

Trabalho realizado no Centro de Investigação Allergisa Pesquisa Dermatocosmética LTDA – Campinas (SP), Brasil.

Suporte Financeiro: Este estudo foi custeado por verba de pesquisa do La Roche-Posay Laboratoire Dermatologique Brasil – Rio de Janeiro, Brasil.

Conflito de Interesses: As autoras Clarice Martins Caixeta e Nathalia Meireles Ribeiro são respectivamente farmacêutica e estagiária em farmácia do La Roche-Posay Laboratoire Dermatologique Brasil – Rio de Janeiro, Brasil.

INTRODUÇÃO

Segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia, a pele envelhecida se caracteriza por ser “fina, sem elasticidade e apresentar rugas e aprofundamento das linhas de expressão”.¹ Além disso, observa-se menor hidratação, perda da luminosidade, aumento da flacidez e tonalidade pouco uniforme.¹ O envelhecimento ocorre tanto pelas características genéticas quanto por fatores ambientais e hábitos de vida, como tabagismo, alimentação inadequada e falta de exercícios físicos.²⁻⁴ Durante o envelhecimento intrínseco cutâneo ocorre a modificação do material genético, e a proliferação celular decresce, resultando na perda de elasticidade e da capacidade de regular o metabolismo, além de a replicação do tecido se tornar menos eficiente.² Oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres aceleram esse fenômeno, gerando estresse oxidativo, cujo maior dano é a peroxidação dos ácidos graxos da dupla camada lipídica da membrana celular levando à apoptose.⁵ Para evitar esse processo, a pele possui seu próprio mecanismo de defesa. Entretanto, a capacidade protetora desse mecanismo diminui com o envelhecimento, e compostos exógenos podem reforçar a proteção natural.⁶ Os produtos para prevenção do envelhecimento são empregados na tentativa de minimizar essas características de pele envelhecida.⁷

Atualmente muitos antioxidantes estão disponíveis em formulações cosméticas e em medicamentos. Os mais comuns são: vitaminas C e E, retinoides, resveratrol, coenzima Q-10, idebenona, ácido lipoico e flavonoides, entre outros.²

A vitamina C pura, também conhecida como ácido L-ascórbico (AA), é vital para a formação do colágeno e de elastina, aumentando o tônus da pele, além de ser considerada altamente tolerável.⁸ O AA é capaz de estimular a proliferação celular, bem como a síntese de colágeno pelos fibroblastos dérmicos, independente da idade do paciente.⁹ Dados indicam que a aplicação tópica de vitamina C restaura parcialmente a estrutura anatômica da junção dermoepidérmica na pele jovem e aumenta o número de anéis capilares nutritivos na derme papilar, próximo do tecido epidérmico, na pele envelhecida de mulheres na pós-menopausa.⁹ Haftek e colaboradores observaram melhora significativa do score clínico de rugas superficiais e profundas, flacidez, firmeza, textura irregular e hidratação da pele de 20 mulheres após seis meses de tratamento com um dermocosmético com o AA combinado a madecassoside (5% vitamina C estabilizada e 0,1% de madecassoside – Redermic; La Roche-Posay Laboratoire Pharmaceutique, La Roche-Posay, França).¹⁰ Esses resultados foram obtidos por avaliações instrumentais da elasticidade da pele e avaliações histológicas semiquantitativas da rede de fibras elásticas na derme papilar.^{10,11}

Os monossacarídeos também são ingredientes amplamente utilizados nos produtos antienvhecimento, e entre eles está a manose,¹² um monossacarídeo responsável pela síntese de glicoproteínas, de origem vegetal, e com alta capacidade de retenção de água.¹² É capaz de alterar as propriedades refletoras da luz na pele, provocando efeito de alisamento óptico.¹²

Outro ativo que atua no rejuvenescimento cutâneo é o ácido hialurônico (AH) fragmentado. Trata-se de polissacarídeo

produzido pelos fibroblastos e queratinócitos, composto de ácido glicurônico e N-acetilglucosamina.¹³ É uma das principais substâncias da matriz extracelular, na qual fibras colágenas e de elastina estão embebidas.¹⁴ Possui alta capacidade higroscópica, e é responsável pela manutenção do espaço extracelular e hidratação do tecido.¹⁴

Farwick e colaboradores realizaram testes com AH de diferentes pesos moleculares – entre 800 e 20kda – e observaram que o tamanho de 50kda é o ideal para o uso tópico, tendo em vista que o ácido hialurônico fragmentado penetra três vezes mais a pele do que o não fragmentado.¹⁴ Com a fragmentação, o ativo passa a atuar no rejuvenescimento da pele, além de proporcionar maior hidratação cutânea, reduzindo os efeitos indesejados mediados pelos receptores *Toll-like* (TLR) que ativam mediadores pró-inflamatórios.¹⁴ Dessa maneira, é possível afirmar que a aplicação tópica de AH fragmentado pode melhorar as funções de hidratação e de rejuvenescimento da pele, por sua capacidade de penetração, alcançada com a diminuição de tamanho de suas moléculas.¹⁴

Os ativos vitamina C, manose e ácido hialurônico fragmentado apresentam eficácia comprovada na redução de rugas, uniformização e hidratação da pele.^{10,12,14} O objetivo deste estudo é investigar se a associação desses ativos apresenta potencialização dos resultados e aumento dos benefícios de um produto antienvhecimento para os pacientes.

O estudo avaliou – *in vivo* e *in vitro* – o efeito de um produto com a associação desses três ativos (vitamina C pura a 5%, manose a 5% e ácido hialurônico fragmentado) na diminuição de rugas e linhas finas, no efeito imediato de uniformização da pele, na melhora da firmeza e hidratação cutâneas, além de sua eficácia comparativa na contração de equivalentes dérmicos.

MÉTODOS

Avaliação *in vivo*

Estudo monocêntrico e cego, por avaliações clínica, subjetiva e instrumental realizado no centro de investigação Allergisa Pesquisa Dermato-cosmética LTDA em Campinas, no período de 14/02/13 a 22/05/13, conduzido em conformidade com os princípios da Declaração de Helsinki. Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (o estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Irmandade de Misericórdia de Campinas – Hospital Irmãos Penteados), foram recrutadas 45 mulheres brasileiras com idade entre 40 e 50 anos [idade média: 46 anos (+/- 4,6)]. As voluntárias eram sadias e não apresentavam dermatoses em atividade na região facial. Possuíam sinais de envelhecimento facial leve ou moderado, encaixando-se nos grupos 2 e 3 de acordo com a escala de envelhecimento de Glogau.¹⁵ Apresentavam linhas finas, rugas e sinais de hiperpigmentação facial correspondentes aos fototipos I e III da escala de Fitzpatrick.¹⁶ Todas as voluntárias expressaram sua vontade de participar do estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes de ser submetidas a quaisquer procedimentos previstos pelo protocolo clínico.

As voluntárias utilizaram o produto testado durante o estudo. As aplicações foram realizadas duas vezes por dia na face, durante 12 semanas. Para garantir que o modo de uso tenha sido feito da maneira mais adequada, os recipientes foram pesados a cada tempo do estudo. Além do produto foram feitas aplicações diárias de protetor solar.

O produto testado continha vitamina C pura a 5%, manose a 5% e ácido hialurônico fragmentado (Redermic Hyalu C, La Roche-Posay Laboratoire Dermatologique, La Roche-Posay, França). O protetor solar associado foi Anthelios AC Gel Creme Toque Seco FPS 30 E PPD 15, La Roche-Posay Laboratoire Dermatologique, La Roche-Posay, França.

As visitas ao centro de estudo foram feitas no tempo inicial (T0) e após 28 (T28), 56 (T56) e 84 (T84) dias da utilização do produto pelas voluntárias, a fim de realizar as avaliações clínica pelo dermatologista, de eficácia percebida e instrumental.

As características clínicas analisadas por escala visual padronizada (VAS – Visual Analog Scale)¹⁷ foram: rugas, hidratação, textura, flacidez, luminosidade e uniformidade de tom. Já os critérios de eficácia percebida, determinados através de questionário padronizado, foram: tonicidade, conforto, maciez e ressecamento. Na análise instrumental foram usados Optical 3D Skin Measuring Device PRIMOS Compact 5.075 (GF Messtechnik GmbH, Teltow, Alemanha) e Visia CR (Canfield Imaging Systems, Fairfield, Estados Unidos) nas regiões frontal e laterais, para a avaliação de rugas e linhas finas e para a realização de fotos padronizadas, respectivamente.

Foi realizada análise exploratória dos dados (tabelas resumo, gráficos, frequências e porcentagens). Os tempos foram comparados através do teste t de Student pareado com hipótese unilateral para os dados instrumentais e através da regressão logística ordinal para os dados de eficácia. O nível de confiança considerado nas análises comparativas foi de 95%. Software: XLSTAT 2013, STATA 10 e MINITAB 14.

Avaliação *in vitro*

Avaliação da contração de equivalentes dérmicos

No teste *in vitro* foi feita a avaliação da contração da equivalente dérmico após a aplicação do produto em teste e de outro produto comercializado para fins de redução de rugas, também contendo ácido hialurônico fragmentado, além do controle.

O método utilizado segue a norma internacional ISO 10.993-5¹⁸ baseando-se na redução do crescimento celular refletido pelo número de células, causado pela exposição a um agente citotóxico. O grau de inibição do crescimento, relativo à concentração da amostra teste, fornece indicação de toxicidade. As células foram mantidas em cultura e expostas a várias concentrações do composto teste. As culturas foram visualmente examinadas após 24 horas, sendo estimada a dose mais alta tolerada (*Highest Tolerated Dose* – HTD) e determinado o número de células viáveis e/ou o total do conteúdo celular. O número de células na presença da substância teste foi comparado àquele observado no controle, e a porcentagem de inibição do crescimento foi calculada. A contração da amostra teste que

apresentou inibição de 50% do crescimento celular (IC50) foi determinada e expressa em mg/ml. Esse valor possibilitou a comparação da citotoxicidade relativa do composto teste a ser analisado.¹⁸

A fim de avaliar a contração do equivalente dérmico também foram feitas as seguintes metodologias,

- preparação do equivalente dérmico sem a presença de Glicosaminoglicanas (GAGs);
- preparação do equivalente dérmico na presença de GAGs.

O cálculo da viabilidade celular – expressa em NRU (*Neutral Red Uptake* – medida de viabilidade de células em cultura) – foi feito para cada concentração do químico teste pelo uso da média de NRU de seis valores de replicatas por concentração teste. Esse valor foi comparado com a média NRU de todos os valores do controle negativo (CN). A viabilidade celular relativa foi então expressa como porcentagem do controle não tratado.¹⁹

RESULTADOS

Avaliação *in vivo*

Os resultados do estudo clínico mostraram que, de acordo com a avaliação feita pelos dermatologistas, os critérios de rugas/quantidade de rugas, flacidez, textura do relevo cutâneo, hidratação e luminosidade melhoraram significativamente ao longo do tempo (Gráficos 1 a 5 e Figuras 1 a 3). Os resultados comparativos entre os tempos estão representados na tabela 1.

De acordo com a avaliação de eficácia percebida, os

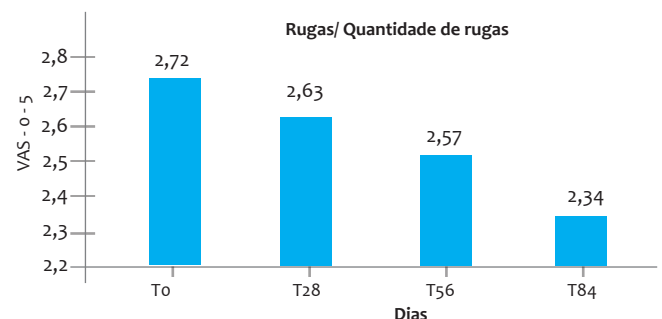


GRÁFICO 1: Escore total. Porcentagens de pacientes com melhora de pelo menos 50% em relação à So por grupo

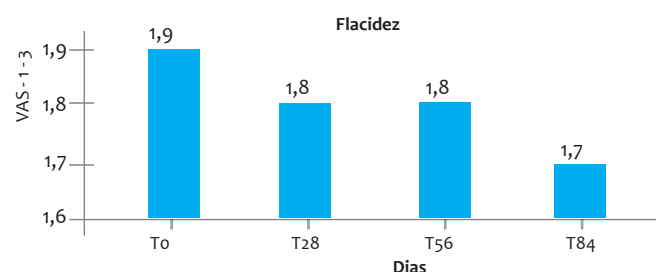


GRÁFICO 2: Melhora dos níveis de flacidez ao longo do tempo

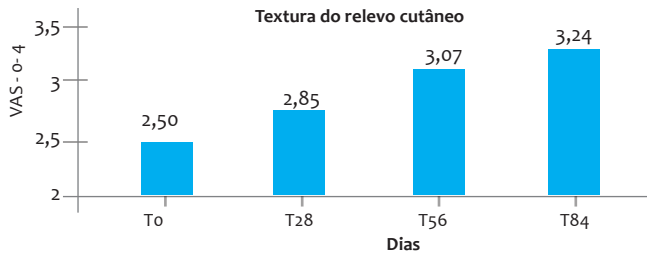


GRÁFICO 3: Melhora da textura do relevo cutâneo ao longo do tempo

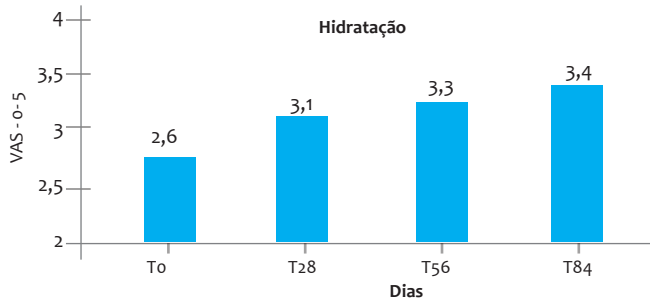


GRÁFICO 4: Melhora dos níveis de hidratação ao longo do tempo

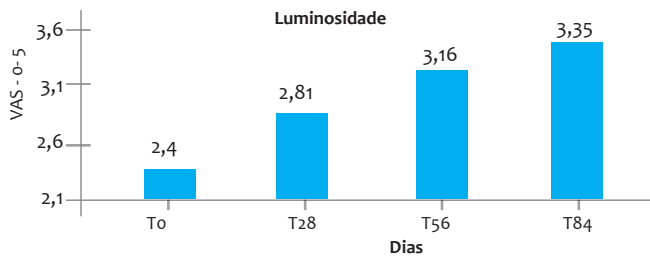


GRÁFICO 5: Melhora dos níveis de luminosidade ao longo do tempo



To



T84

FIGURA 2: Mento da voluntária 005 em To e T84 dias



To



T84

FIGURA 3: Relevo cutâneo da voluntária 015 em To e T84



To



T84

FIGURA 1: Rugas periorbitais da voluntária 016 em To e T84 dias

voluntários relataram melhora da tonicidade, do conforto, da maciez da pele, além da melhora do ressecamento como pode ser observado na tabela 2.

Pela avaliação instrumental com o equipamento PRIMOS, observou-se redução de 12,6% no volume e de 8,3% na profundidade das rugas 30 minutos após a aplicação do produto. Na medição em T84 (após 84 dias de uso do produto), houve redução de 17,8% no volume das rugas e de 10,2% na ondulação da epiderme ($p < 0,05$) (Figuras 4, 5 e 6).

Tabela 1: Resultados de eficácia clínica comparativa entre os tempos de avaliação

Atributo	Eficácia Clínica Comparativa Entre Os Tempos De Avaliação					
	T28 x To P-valor	Resultado	T56 x To P-valor	Resultado	T84 x To P-valor	Resultado
Rugas/ Quantidade de rugas	0,05*	T28<to<p=""></to></td> <td>0,03*</td> <td>T56<to<p=""></to></td> <td>0,03*</td> <td>T84<to<p=""></to></td> </td></td>	0,03*	T56<to<p=""></to></td> <td>0,03*</td> <td>T84<to<p=""></to></td> </td>	0,03*	T84<to<p=""></to></td>
Flacidez	0,031*	T28<to<p=""></to></td> <td>0,031*</td> <td>T56<to<p=""></to></td> <td>0,030*</td> <td>T84<to<p=""></to></td> </td></td>	0,031*	T56<to<p=""></to></td> <td>0,030*</td> <td>T84<to<p=""></to></td> </td>	0,030*	T84<to<p=""></to></td>
Textura do relevo cutâneo	0,009**	T28>To	<0,001***	T56>To	<0,001***	T84>To
Hidratação	0,001**	T28>To	<0,001***	T56>To	<0,001***	T84>To
Luminosidade	<0,001**	T28>To	<0,001***	T56>To	<0,001***	T84>To

* Nível de 5% de significância, ** nível de 1% de significância, *** nível de 0,1% de significância

Tabela 2: Porcentagem de voluntárias com melhora dos parâmetros de acordo com a eficácia percebida nos tempos de avaliação

TEMPO	Porcentagem De Voluntárias Com Melhora (N = 45)		
	T28	T56	T84
Tonicidade	71,1	78,9	83,8
Maciez	94,7	100	100
Conforto	86,8	92,1	92,1
Ressecamento	86,8	86,8	92,9

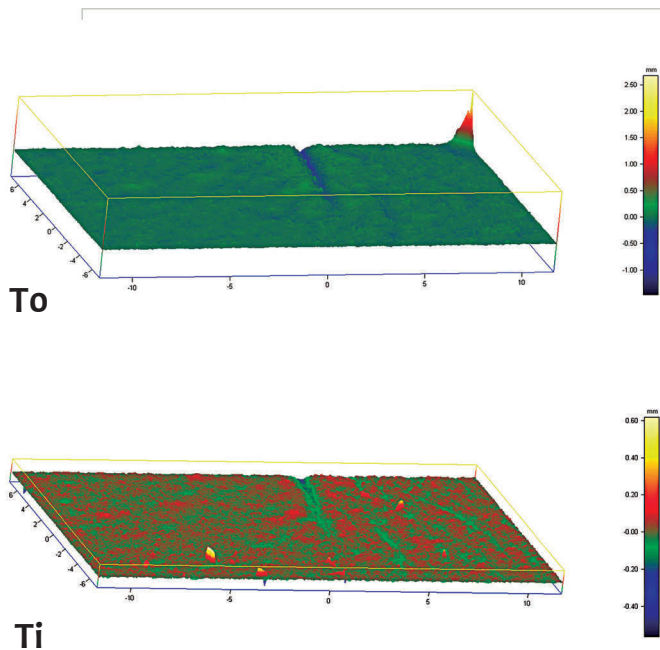


FIGURA 4: Avaliação do volume de rugas no (Ti) 30 minutos após a primeira aplicação do produto. Equipamento: PRIMOS; Voluntária: 005

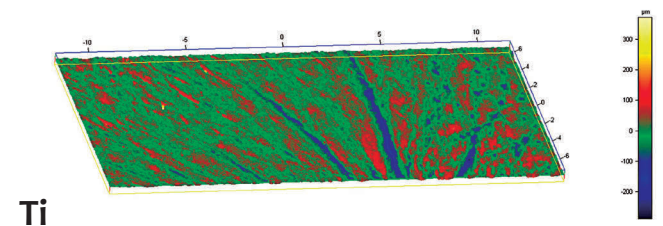
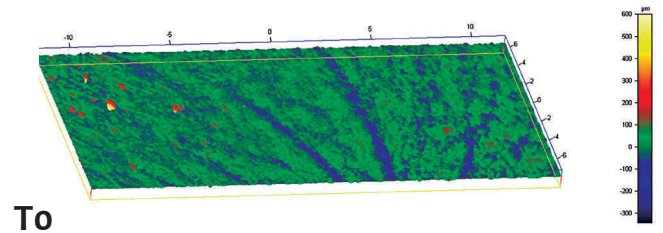


FIGURA 5: Avaliação da profundidade de rugas no (Ti) 30 minutos após a primeira aplicação do produto. Equipamento: PRIMOS; Voluntária: 028

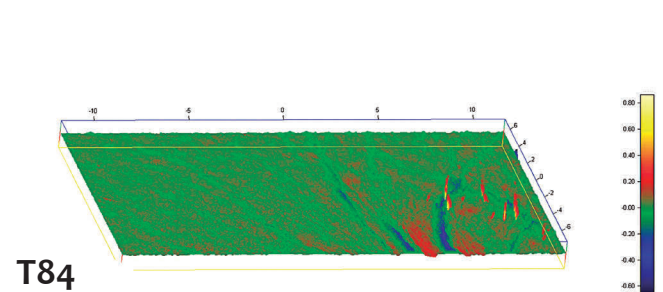
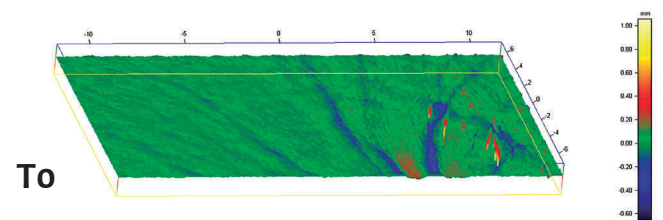


FIGURA 6: Avaliação da ondulação da epiderme 84 dias após o início do uso do produto. Equipamento: PRIMOS; Voluntária: 036

Avaliação *in vitro*

No estudo *in vitro* foi avaliada a porcentagem de retração (ou contração) do equivalente dérmico exposto ao produto teste e ao produto comercializado para redução de rugas contendo ácido hialurônico nos tempos 24, 48 e 96 horas de exposição, em relação ao tempo de quatro horas de incubação (tempo zero para início da contração). Após 24 horas de exposição, praticamente não foi observada maior contração que o controle para a derme tratada com o produto teste a 0,01mg/ml. Porém, observou-se 8,36% a mais de contração do que o controle para a derme tratada com 0,1mg/ml. A diferença na contração em relação ao controle (derme não tratada) foi mais bem observada após 96 horas de incubação. Para a derme tratada com 0,01mg/ml foi observada contração 11,99% superior ao controle, e para a derme tratada com 0,1mg/ml, contração 23,55% superior. Esses números sugerem que o produto teste aumentou a velocidade de contração nas dermes equivalentes tratadas em relação à derme não tratada.

Nas dermes tratadas com o produto comercializado para redução de rugas contendo ácido hialurônico, após 24 horas de exposição foi observada maior contração que o controle para a derme tratada com a amostra 0,01mg/ml de 3,02%, e para a derme tratada com 0,1mg/ml de 7,87%. Houve menor contração em relação ao controle (derme não tratada) mais bem observada após 96 horas de incubação. Para a derme tratada com 0,01mg/ml observou-se contração de 2,51% inferior à do controle, e para a derme tratada com 0,1mg/ml contração 7,77% inferior. Esses resultados sugerem que o produto comercializado para fins de

redução de rugas contendo ácido hialurônico possui velocidade de contração menor do que a do controle.

Desse modo, o produto teste apresentou maior contração da derme em relação ao controle e a produto comercializado para fins de redução de rugas contendo o ativo, o que está relacionado com o aumento da produção de colágeno pela maior ativação dos fibroblastos (Gráfico 6 e Figura 7).

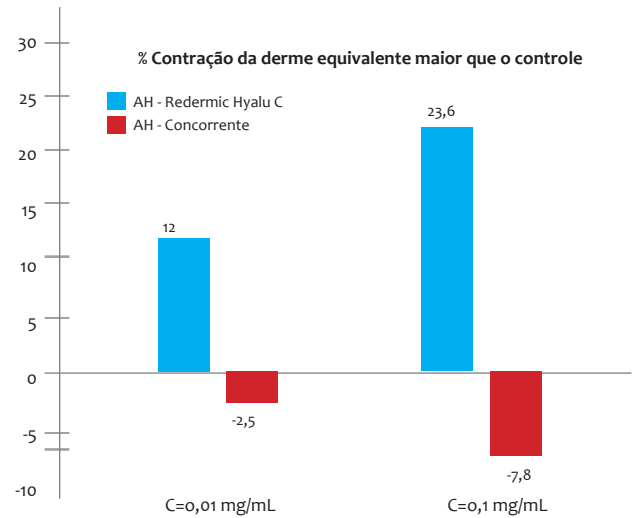


GRÁFICO 6: O produto teste mostra maior contração da derme em relação a produto comercializado para fins de redução de rugas contendo o ativo

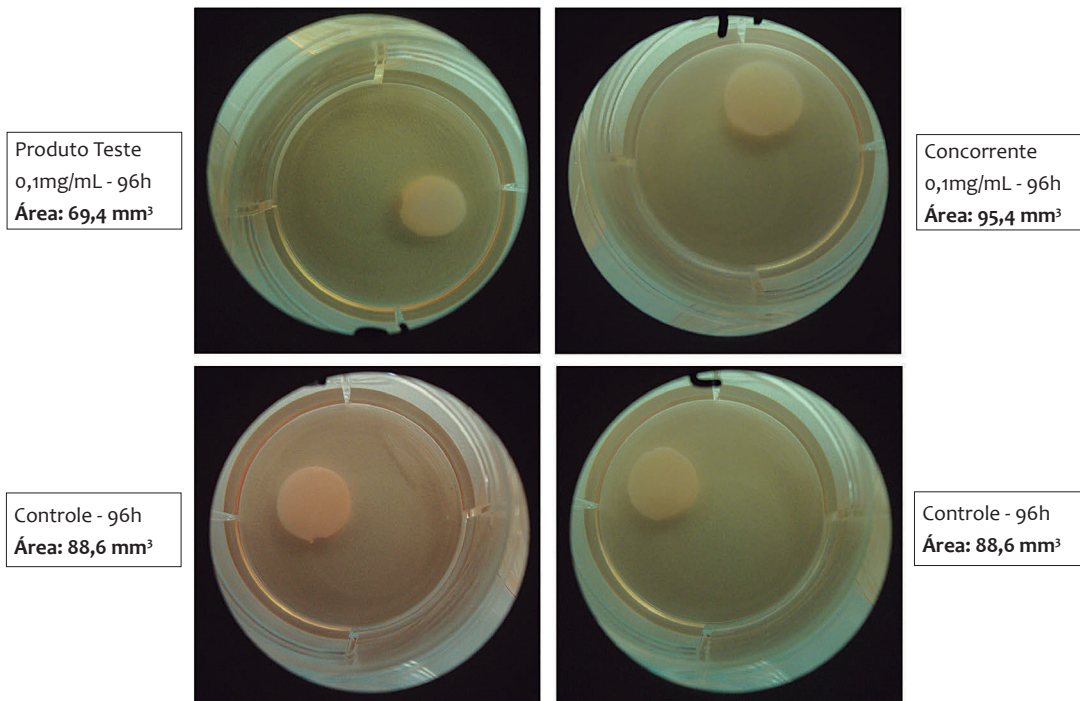


FIGURA 7: Avaliação da ondulação da epiderme 84 dias após o início do uso do produto. Equipamento: PRIMOS Voluntária: 036

DISCUSSÃO

Avaliação *in vivo*

No estudo *in vivo*, de acordo com a metodologia utilizada para avaliação da eficácia do produto teste, observou-se melhora significativa na hidratação, na textura do relevo cutâneo e na luminosidade após 28, 56 e 84 dias de seu uso. O produto promoveu a redução das rugas imediatamente após a aplicação, o aumento da firmeza da pele e a redução da perda de água transepidérmica após 28, 56 e 84 dias de seu uso. Os resultados observados no presente estudo confirmam a já amplamente comprovada ação do AA no aumento da proliferação celular e síntese de colágeno pelos fibroblastos dérmicos.^{9,20} O AA também se apresenta como cofator essencial na hidroxilação da prolina e da lisina, necessárias para estrutura e função do colágeno.²¹ Os achados da ação da vitamina C na pele descritos na literatura corroboram os resultados obtidos no estudo, que ainda podem ser suportados pelos efeitos cutâneos do ácido hialurônico fragmentado e da manose.

O ácido hialurônico (AH) é uma das principais substâncias da matriz extracelular, em que o colágeno e a elastina estão embebidos.¹⁴ Outra característica do AH é sua alta capacidade de ligação com a água, contribuindo para a manutenção do espaço extracelular e hidratação do tecido.¹⁴ Essas propriedades tornam o HA um componente valioso em aplicações cosméticas antienvhecimento.¹⁴ A manose também possui alta capacidade higroscópica devido a sua estrutura molecular, evitando a perda de água transepidérmica e, por consequência, suavizando as rugas e linhas finas.¹² Não há relatos na literatura do efeito associado desses três ativos, mas os resultados encontrados evidenciam sua ação sinérgica nos sinais do envelhecimento da pele.

Avaliação *in vitro*

O primeiro modelo de pele equivalente descrito na literatura usou gel de colágeno e foi proposto por Karasek e Charlton em 1971 e desenvolvido por Bell et al. em 1979.²² A resistência e insolubilidade do colágeno são obtidas pela retração do gel pelos fibroblastos. Esse processo inicia a formação de uma derme equivalente viva, cujo tamanho final é proporcional ao número de células e inversamente proporcional à concentração de colágeno, ou seja, quanto maior o número de células, menor a área da derme.²³

Observou-se aumento significativo da produção de colágeno pela maior ativação de fibroblastos (diminuição/ contração da derme equivalente) com o produto teste em relação ao controle. Já o produto comercializado para fins de redução de rugas contendo ácido hialurônico diminuiu significativamente a contração da derme equivalente em relação ao controle. As dermes tratadas com o produto teste apresentaram maior contração em comparação com as dermes tratadas com o produto comercializado para fins de redução de rugas contendo ácido hialurônico.

As amostras do produto teste e do produto-controle apresentaram respostas opostas referentes à contração da derme. As dermes tratadas com o produto teste contraem mais rapidamente que o controle, enquanto as dermes tratadas com o produto comercializado para fins de redução de rugas contendo ácido hialurônico contraem mais lentamente do que as dermes-controle. Essas diferenças na eficácia de contração da derme podem estar relacionadas ao tipo do ingrediente presente em cada formulação, como também a sua concentração.

A utilização de modelos de pele reconstruídas *in vitro*, tendo a expressão dos fibroblastos como marcador de atividade, é amplamente descrita na literatura.²³⁻²⁵ A maior ativação dos fibroblastos e produção de colágeno pelo produto teste é respaldada pelas já descritas ações do AA e AH no aumento da proliferação celular e síntese de colágeno pelos fibroblastos dérmicos.^{9,20}

CONCLUSÃO

Os ativos vitamina C, manose e ácido hialurônico fragmentado apresentam eficácia comprovada na redução de rugas, uniformização e hidratação,^{10,12,14} mas sua ação associada ainda não havia sido descrita na literatura. O presente estudo demonstrou a eficácia de um produto anti-idade contendo os três ativos na diminuição das rugas, diminuição nos níveis de flacidez e melhora na hidratação, luminosidade e uniformidade do tom. Os resultados foram obtidos tanto *in vivo*, por avaliações clínicas por dermatologista e percebida pelas voluntárias do estudo, quanto *in vitro*, por contração da derme equivalente. O produto teste aumentou significativamente a contração da derme equivalente em relação ao controle. Já o produto comercializado para fins de redução de rugas contendo ácido hialurônico diminuiu significativamente a contração da derme equivalente em relação ao controle. Esses achados comprovam os benefícios da sinergia de ativos no rejuvenescimento da pele. ●

REFERÊNCIAS

- Sbd.org [página na internet]. Sociedade Brasileira de Dermatologia, Envelhecimento. [acesso 10 jun 2014]. Disponível em: <http://www.sbd.org.br/doencas/envelhecimento/>
- Hirata LL, Mayumi EOS, Santos CAM. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. *Acta Farm Bonaerense*. 2004;23(3):418-24.
- Soussolier L, Berthon JY. Phytobioactives and their role in preventing skin aging. *Happi*. 1998;93-6.
- Podda M, Grundmann-Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clin Exp Dermatol*. 2001;26(7):578-82.
- Vieira F, Magacho N. Mecanismos Moleculares do Envelhecimento Cutâneo: dos cromossomos as rugas. São Paulo: Artes Médicas; 2007.
- Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48(1):1-19.
- Chen L, Hu JY, Wang SQ. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67(5):1013-24.
- Humbert PG, Haftek M, Creidi P, Lapière C, Nusgens B, Richard A, et al. Topical ascorbic acid on photoaged skin. Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: double-blind study vs. placebo. *Exp Dermatol*. 2003;12(3):237-44.
- Phillips CL, Combs SB, Pinnell SR. Effects of ascorbic acid on proliferation and collagen synthesis in relation to the donor age of human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol*. 1994;103(2):228-32.
- Haftek M, Mac-Mary S, Le Bitoux MA, Creidi P, Seité S, Rougier A, et al. Clinical, biometric and structural evaluation of the long-term effects of a topical treatment with ascorbic acid and madecassoside in photoaged human skin. *Exp Dermatol*. 2008;17(11):946-52.
- Sauermaann K, Jaspers S, Koop U, Wenck H. Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin. *BMC Dermatol*. 2004;10(4):273-81.
- Assrey AM, Shibuya MD, Martins GJ, De Souza ML, Cavada BS, Moreira RA, et al. Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation*. 1997;6:3:201-10.
- Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni medicina*. 2008;53(8):397-411.
- Farwick M, Lersch P, Strutz G. Low Molecular Weight Hyaluronic Acid: Its Effects on Epidermal Gene Expression & Skin Ageing. *SOFW Journal*. 2008;134(11):2-6.
- Glogau RG. Aesthetic and anatomic analysis of the aging skin. *Semin Cutan Med Surg*. 1996;15:3:134-8.
- Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988;124(6):869-71.
- Wewers ME, Lowe NK. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Res Nurs Health*. 1990;13(4):227-36.
- Iso.org [Internet]. ISO 10993-5:2009(E). Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity. [cited 2015 Mar 3]. Available from: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-5:ed-3:v1:en>
- Repetto G, Del Peso A, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat Protoc*. 2008;3(7):1125-31.
- Welch RW, Bergsten P, Butler JD, Levine M. Ascorbic acid accumulation and transport in human fibroblasts. *Biochem J*. 1993;294(Pt 2):505-10.
- Englard S, Seifter S. The biochemical functions of ascorbic acid. *Annu Rev Nutr*. 1986;6:365-406.
- Elsdale T, Bard J. Collagen substrate on studies on cell behavior. *J Cell Biol*. 1972;54(3):626-37.
- Auxenfans C, Fradette J, Lequeux C, Germain L, Kinikoglu B, Bechetoille N, et al. Evolution of three dimensional skin equivalent models reconstructed *in vitro* by tissue engineering. *Eur J Dermatol*. 2009;19(2):107-113.
- Poumay Y, Dupont F, Marcoux S, Leclercq-Smekens M, Hérin M, Coquette A. A simple reconstructed human epidermis: preparation of the culture model and utilization *in vitro* studies. *Arch Dermatol Res*. 2004;296(5):203-11.