

UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

Vanda Maria Fogaça Rosa da Cruz

ESTUDO FOTOACÚSTICO DE PROTETORES SOLARES
APLICADOS À PELE *IN VITRO*

São José dos Campos, SP
2005

Vanda Maria Fogaça Rosa da Cruz

ESTUDO FOTOACÚSTICO DE PROTETORES SOLARES
APLICADOS À PELE *IN VITRO*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roxo Barja

São José dos Campos, SP
2005

C966e

Cruz, Vanda Maria Fogaça Rosa da
Estudo fotoacústico de protetores solares aplicados à pele
in vitro / Vanda Maria Fogaça Rosa da Cruz. São José dos
Campos: UniVap, 2005.
85p.: il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Engenharia Biomédica do Instituto de Pesquisa e
Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2005.

I. Fotoacústica 2. Protetores solares 3. Pele I. Barja,
Paulo Roxo, Orient. II. Título

CDU:616.5

Autorizo, exclusivamente por fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial
desta dissertação, por processo fotocopiador ou transmissão eletrônica.

ASSINATURA DO ALUNO: _____



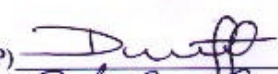
São José dos Campos, 26 de agosto de 2005

**"ESTUDO FOTOACÚSTICO DE PROTETORES SOLARES APLICADOS À PELE
IN VITRO"**

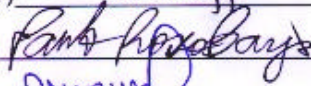
Vanda Maria Fogaça Rosa Cruz

Banca Examinadora:


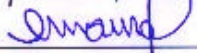
Prof. Dr. DANIEL ACOSTA AVALOS (UNIVAP)



Prof. Dr. PAULO ROXO BARJA (UNIVAP)



Prof. Dr. MAURO LUCIANO BAESSO (UEM)



Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D - Univap
São José dos Campos, 26 de agosto de 2005.

Dedicatória

Ao meu amado esposo Eli Jorge, por todo amor, incentivo, compreensão, encorajamento e por estar ao meu lado durante todos os momentos desta trajetória.

Aos meus filhos Daniel, Samuel e Jorginho, fonte de inspiração e entusiasmo durante esta caminhada. Dedico a vocês meu amor.

Agradecimentos

A Deus, Fonte de toda sabedoria e ciência, Criador da vida e Senhor de toda natureza, agradeço pela dádiva da vida, e por me suster durante toda esta trajetória.

Ao Reitor Prof. Dr. Baptista Gargione Filho pela oportunidade e por sua visão de promover o crescimento e aperfeiçoamento dos docentes de nossa Universidade.

Ao Prof. Dr. Marcos Tadeu T. Pacheco, Diretor do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento-(IP&D) da UNIVAP pela competência em coordenar e nos transmitir informações valiosas, por seu incentivo à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro, diretor da Faculdade de Ciências da Saúde pela confiança dispensada em seu corpo docente.

À Coordenadora do Curso de Enfermagem Anna Lúcia G. G. de Sant'Anna pela oportunidade, apoio e compreensão sempre constantes.

À Prof. Dra. Maria Belén Salazar. Posso, por estar sempre me abrindo portas para novas oportunidades, pelo exemplo de dedicação, competência e esforço e pelo carinho que sempre me dedicou. Minha sincera gratidão.

Ao Professor Dr. Paulo Roxo Barja, pela orientação, por todo apoio, encorajamento, dedicação e confiança. Com toda sabedoria e conhecimento de um doutor, para mim você foi um verdadeiro mestre, ao me mostrar o caminho da pesquisa e da ciência. Deixo minha admiração. Há sentimentos que as palavras não conseguem traduzir, minha gratidão a você é uma delas.

Ao querido Professor Dr. Daniel Acosta-Avalos, por todo apoio dispensado, pelas sábias orientações, principalmente durante as medidas no laboratório e por estar sempre disposto a esclarecer qualquer dúvida. Muito obrigado.

Às secretárias, Ivone, Claudia pela disposição em nos atender e ajudar sempre que necessário.

À bibliotecária Rosângela Regis Cavalcanti Taranger, pela disponibilidade, competência e simpatia com que nos ajuda.

Ao Dr. Aluísio de Oliveira Fernandes, diretor clínico do Hospital e Maternidade Policlin, pela disposição em me ceder amostras para que este trabalho se tornasse realidade. Muito obrigado.

À enfermeira Gilda Batista da Silva, pela sua valiosa ajuda e empenho em providenciar as amostras, por todo trabalho que lhe dei, sou grata.

À Fabiane Vieira Fernandes pelo apoio e compreensão durante estes anos.

Ao Sergio Oliveira, pela ajuda incomparável em relação às medidas, que muito me auxiliou como também pelo seu apoio e incentivo. Faltam-me palavras para expressar o quanto lhe sou grata. Sucesso para você.

Ao Prof. Dr. Edson Corrêa da Silva, Prof. Dr. Antonio Mansanares, Dinah e demais componentes da equipe do Laboratório de Fototérmica e Ressonância Magnética do Instituto de Física *Gleb Wataghin* da UNICAMP, por me abrir as portas do laboratório e pela acolhida calorosa que sempre tive.

Ao meu esposo e filhos, por muito que me ajudaram, suprimindo minhas limitações no computador, fotos, cálculos e pelo tempo que me afastei de vocês para me dedicar ao trabalho. Eu os amo demais.

À minha mãe, pelo incentivo, por acreditar em mim e pelo seu amor especial.

Ao meu pai, que apesar de ausente, deixou-me o legado da busca pelo saber, da persistência e do amor. Sempre lhe amarei.

Às minhas irmãs Sonia e Sandra, pelo companheirismo, pelas palavras de encorajamento, pelo carinho e paciência.

À Aninha, nossa criança querida.

Ao Jamil Thiago, pelo tempo que esteve conosco, pelas palavras de incentivo e pelas aulas de matemática. Sucesso para você.

À Sra Iraci Araujo da Cruz, por sempre acreditar em mim, por seu apoio e incentivo. Por dedicar-me amor e carinho de uma verdadeira mãe.

Às minhas companheiras de jornada Claudia e Marisa. Com certeza, com vocês foi mais leve a caminhada pelo meio dos cálculos, traduções, lasers e coisas mais. O sábio Salomão escreveu que “Há amigos mais chegados que um irmão.” Com certeza digo o mesmo sobre vocês. Não vou esquecer tudo o que temos partilhado juntas e por todo apoio e ajuda durante o desenvolvimento desta pesquisa.

À Roberta Zloconwick, pela sua amizade, compreensão, incentivo. O sábio Salomão também disse: “Quem tem amigo encontrou um tesouro”. Sua amizade é muito preciosa para mim.

Às meninas, Alessandra e Janaína, pelo apoio, principalmente no momento das medidas. Pela disposição e incentivo.

À Fernanda Marciano, pela paciência e disposição em me ajudar e ensinar.

Aos meus especiais amigos desta caminhada, Ivany de C. M. Baptista e Aristides José da Silva Júnior. Nunca vou esquecer de todo apoio, incentivo e ajuda durante o desenvolvimento desta pesquisa.

À Kátia Zeny Assumpção Pedroso, pela sua amizade e carinho. Você foi o incentivo para o início desta caminhada.

À Maria José Santos Silva, pelo apoio e carinho que me dispensou nestes anos, ficando ao meu lado e cuidando não só de minha casa mas também de mim e de meus filhos.

À Ruth Regina Weber, pela valiosa ajuda nas traduções e aulas de inglês e pelo carinho dispensado.

Aos amigos e irmãos da Igreja Cristã Evangélica do Jardim Maringá, pelo apoio, incentivo e orações.

EPÍGRAFE

Senhor, Senhor nosso,

Como é majestoso o teu nome em toda a terra!

Tu, cuja Glória é cantada nos céus

Quando contemplo os teus céus, obra dos teus dedos,

E a lua e as estrelas que ali firmastes,

Pergunto:

Quem é o homem para que com ele te importes?

E o filho do homem para que com ele te preocupes?

Tu o fizestes um pouco menor do que os seres celestiais

E o coroaste de glória e de honra.

Tu o fizeste dominar sobre as obras das tuas mãos

Sobre os teus pés tudo puseste.

Senhor, Senhor nosso,

Como é majestoso o teu nome em toda a terra!

Salmo de Davi

RESUMO

Embora a radiação solar seja essencial para a vida na Terra, a radiação ultravioleta emitida pelo Sol pode causar queimaduras, envelhecimento precoce e lesões cancerígenas na pele. Protetores ou filtros solares são substâncias que protegem a pele contra os danos causados pela radiação ultravioleta e agem absorvendo ou refletindo a radiação. No presente trabalho, buscou-se avaliar os efeitos da aplicação de um protetor solar à pele, utilizando para isso a técnica fotoacústica. Esta técnica baseia-se na absorção de luz modulada por uma amostra e na subsequente conversão desta energia em calor, gerando ondas térmicas que se propagam pelo meio em que está inserida a amostra. A radiação incidente foi modulada mecanicamente a uma frequência de 19Hz para as medidas fotoacústicas. As medidas foram feitas em amostras de pele *in vitro*, da região do abdome, de indivíduos de pele clara e amostras de protetor solar comercialmente disponível com fator de proteção solar (FPS) 15. Inicialmente, efetuou-se medidas de espectroscopia fotoacústica para obter as curvas de absorção das amostras e do sistema pele+protetor, para diferentes tempos após aplicação do produto. As medições fotoacústicas permitiram obter a curva de absorção para o protetor solar *in situ*, ou seja, aplicado à pele. O espectro de absorção *in situ* mostra que o protetor solar avaliado apresenta absorção mais efetiva na região do UVB. Quatro horas após a aplicação do produto, este foi removido apenas parcialmente por ação mecânica, indicando que houve penetração do produto na camada córnea. Na segunda fase do estudo, foram analisadas medidas do sinal fotoacústico em função do tempo, utilizando como fonte de luz uma lâmpada de tungstênio com baixa emissão na região ultravioleta e um simulador solar que emite radiações UVB e UVA em níveis semelhantes aos da luz solar. Utilizando metodologias distintas, os resultados foram essencialmente os mesmos, mostrando estabilidade no sinal do protetor solar aplicado às amostras de pele, quando estas são mantidas em célula fotoacústica fechada. Estudos posteriores deverão ser realizados *in vivo*.

Palavras-chave: Fotoacústica; protetor solar; pele; fotoestabilidade.

Abstract

Solar radiation is essential to life in Earth; however, the ultraviolet radiation emitted by the sun can produce sunburns, skin aging and cancer lesions in skin. Sunscreens are substances that protect skin against the damage caused by ultraviolet radiation; these products act by absorbing or reflecting radiation. The aim of the present work was to evaluate, using the photoacoustic technique, the effects of a sunscreen applied to the skin. The photoacoustic technique is based upon the absorption of modulated light by a sample and subsequent conversion of this energy into heat, generating thermal waves which propagate through the media in which the sample is inserted. The incident radiation was mechanically modulated at a frequency of 19Hz for the photoacoustic measurements. Measurements were performed *in vitro*, in abdomen skin samples, extracted from white skin, and in a commercially available sunscreen with solar protection factor (SPF) 15. Initially, photoacoustic spectroscopy measurements were performed in order to obtain the absorption curves of the samples and of the system skin+sunscreens, for different periods after sunscreen application. Through these measurements it was possible to obtain the absorption curve for the sunscreen *in situ*, that is, applied to the skin. The absorption spectrum *in situ* shows that the analyzed sunscreen presents more effective absorption in the UVB region. Four hours after the application of the product in skin, the sunscreen was (partially) removed by cleaning, indicating that there was penetration of the product into the corneum layer. In a second phase of the study, photoacoustic measurements were analyzed as a function of time, using as the light source: 1) a tungsten lamp, with low emission in the ultraviolet region and 2) a solar simulator, that emits UVB and UVA radiation in levels similar to sunlight. For both methodologies, the results were essentially the same, showing stability in the level of the photoacoustic signal for the sunscreen applied to the skin samples, when these samples are maintained in a closed photoacoustic cell. Future studies must be done through *in vivo* measurements.

Keywords: sunscreen, photoacoustic technique, skin, photostability

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Camadas da Pele	21
FIGURA 2.	Camadas da epiderme	23
FIGURA 3.	Epiderme e suas estruturas	24
FIGURA 4.	Espectro de ação eritêmica	32
FIGURA 5.	Ilustração esquemática da montagem fotoacústica do laboratório de fototérmica e Ressonância Magnética do Instituto de Física <i>Gleb Wataghin</i> (IFGW), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).	49
FIGURA 6.	Ilustração esquemática da montagem fotoacústica do laboratório de fotoacústica do IP&D da UNIVAP, na cidade de São José dos Campos	50
FIGURA 7.	Espectro de emissão da lâmpada de tungstênio.	51
FIGURA 8.	Ilustração esquemática da célula de duas faces.	51
FIGURA 9.	Espectro do simulador solar.	52
FIGURA 10.	Ilustração esquemática do simulador solar 16S	53
FIGURA 11.	Ilustração esquemática da montagem fotoacústica utilizando o simulador solar como fonte de luz	57
FIGURA 12.	Espectro fotoacústico de absorção do protetor solar	60
FIGURA 13.	Espectro fotoacústico de absorção da epiderme	61
FIGURA 14.	Espectro de absorção do sistema pele+protetor solar em diferentes intervalos de tempo após a aplicação.	62
FIGURA 15.	Espectro fotoacústico de absorção da epiderme limpa após a série de medidas	63
FIGURA 16.	Área calculada sob a curva de absorção do sistema pele+protetor, para os diferentes intervalos de tempo após aplicação do produto.	64
FIGURA 17.	Espectro fotoacústico de absorção <i>in situ</i>	65
FIGURA 18.	Evolução temporal do sinal fotoacústico para amostras de epiderme com e sem protetor solar aplicado (valor médio e desvio padrão).	68
FIGURA 19.	Ganho relativo na amplitude do sinal fotoacústico em função do tempo.	69
FIGURA 20.	Evolução temporal do sinal fotoacústico (valor médio e erro padrão) para amostras de epiderme com e sem protetor solar aplicado utilizando o simulador solar como fonte de luz.	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Classificação dos fototipos de pele segundo Fitzpatrick (1976).	31
TABELA 2. Categorias do índice de ultravioleta.	33
TABELA 3. Classificação dos tipos de pele e FPS apropriado.	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- cm^2 : centímetro quadrado
- DNA : Ácido desoxiribonucleico
- DEM : Dose mínima de eritema
- FDA: Food Drug Administration
- FPS : Fator de proteção Solar
- h : Horas
- Hz : Hertz
- IUUV : Índice ultravioleta
- J : Joules
- m^2 : metro quadrado
- ml : mililitro
- mm : milímetro
- mm^2 : milímetro quadrado
- mV : milivolts
- nm : nanometro
- Pa : Pascal
- PA : Fotoacústica
- RUV: Radiação ultravioleta
- U : Unidade
- u.a. : unidade arbitrária
- UV : Ultravioleta
- UVA : Ultravioleta A
- UVB : Ultravioleta B
- UVC : Ultravioleta C
- W : Watts
- W/m^2 : Wats por metro quadrado
- μl : microlitro
- μm : micra

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Anatomia e Fisiologia da Pele	20
1.1.1. Epiderme	23
1.1.2. Os melanócitos	25
1.2. Radiação Ultravioleta	26
1.3. Eritema e bronzeamento	29
1.4. Classificação de tipos de pele (fototipos)	30
1.5. Índice Ultravioleta	32
1.6. Fotoproteção	34
1.6.1. Protetores solares físicos e químicos: composição	39
1.7. Efeito Fotoacústico	40
2. OBJETIVO	45
3. MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1. Amostras utilizadas	48
3.1.1. Amostras de pele	48
3.1.2. Protetor solar	48
3.2. Montagem experimental	49
3.2.1. Medidas de espectroscopia fotoacústica	49
3.2.2. Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo	50
3.2.3. Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando simulador solar	52
3.3. Procedimento experimental	53
3.3.1. Medidas de espectroscopia fotoacústica	53
3.3.2. Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando lâmpada de tungstênio como fonte de luz	56

3.3.3. Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando simulador solar como fonte de luz	56
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO	58
4.1. Espectroscopia fotoacústica	59
4.2. Sinal fotoacústico em função do tempo	67
4.2.1. Sinal fotoacústico em função do tempo, utilizando lâmpada de tungstênio como fonte de luz	67
4.3. Resultado das medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando simulador solar	70
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	73
REFERÊNCIAS	76
ANEXOS	83

1. INTRODUÇÃO

O sol consiste numa fonte de energia fundamental para sobrevivência do homem e demais seres vivos, participando, direta ou indiretamente, da maioria dos ciclos biológicos, através de seus subprodutos: luz visível, radiação infravermelha e ultravioleta. Poucos seres vivos – basicamente bactérias – sobrevivem sem a presença do sol (KEDE; SABATOWICH, 2004).

A radiação ultravioleta (UV) presente nos raios solares, quando em contato com a pele humana, apresenta efeitos benéficos, como a produção de vitamina D que interfere na prevenção de raquitismo em crianças e de osteoporose em adultos idosos. No entanto, a exposição excessiva pode causar diversos malefícios que vão desde queimaduras, envelhecimento precoce, até lesões graves como diferentes tipos de cânceres de pele (STARY et al, 1997).

Além do ser humano, culturas vegetais, ecossistemas terrestres e aquáticos e materiais inorgânicos também sofrem os efeitos da exposição demasiada à radiação UV. Dentre esses efeitos pode-se destacar a perda de produtividade por fotoinibição em lavouras de frutos, cânceres e mutações genéticas em peixes e anfíbios, desgaste e polimerização de tintas e polímeros (CORREA, 2003).

Na atmosfera, a camada de ozônio constitui uma barreira que filtra as radiações UV, sendo transmitida através das nuvens. A destruição dessa camada vem ocorrendo, de forma significativa, ao longo dos anos; conseqüentemente, o nível de radiação ultravioleta A (UVA) e ultravioleta B (UVB) que atinge a Terra têm aumentado (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

Vários tipos e marcas de filtros solares encontram-se no mercado como opção de proteção da pele contra as radiações UV. Estes se apresentam na forma de creme ou gel e são compostos de substâncias que refletem, dissipam ou absorvem a luz UV.

As informações a respeito dos protetores solares disponíveis variam de acordo com a fonte de pesquisa, fabricante ou dermatologista. A ação dos protetores também é influenciada por vários fatores como tempo de exposição, tipo de pele, suor, umidade e frequência de reaplicação (AROUCA, 2003).

1.1 Anatomia e Fisiologia da Pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a cerca de 20% da massa corporal total. A superfície total da pele no adulto é de aproximadamente 1,6 a 2,0 m². Apresenta múltiplas funções vitais. Além de revestir o corpo, funciona como barreira entre os meios interno e externo, conservando os fluidos corporais e é impermeável à água. Impede a penetração de microorganismos e tem a capacidade de absorver radiação UV, com participação na síntese da vitamina D. Contém vários receptores sensoriais e tem papel definido nos mecanismos de termorregulação e vigilância imunológica. Habitualmente a pele é elástica e pode ser distendida com facilidade (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

Apesar de algumas variações topográficas, a pele é formada por duas camadas principais: a epiderme, composta de epitélio escamoso estratificado, de origem ectodérmica, e a derme, tecido de sustentação, constituído por tecido conjuntivo. Sua espessura varia de 1,5mm a 4,0mm, conforme a região do corpo, sendo mais espessa nas superfícies palmo-plantares. A camada mais profunda é conhecida como tecido celular subcutâneo ou hipoderme, conforme ilustra a figura 1. Os anexos da pele são: folículos pilosos, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, glândulas mamárias e unhas (TCHORNOBAY, 1998).

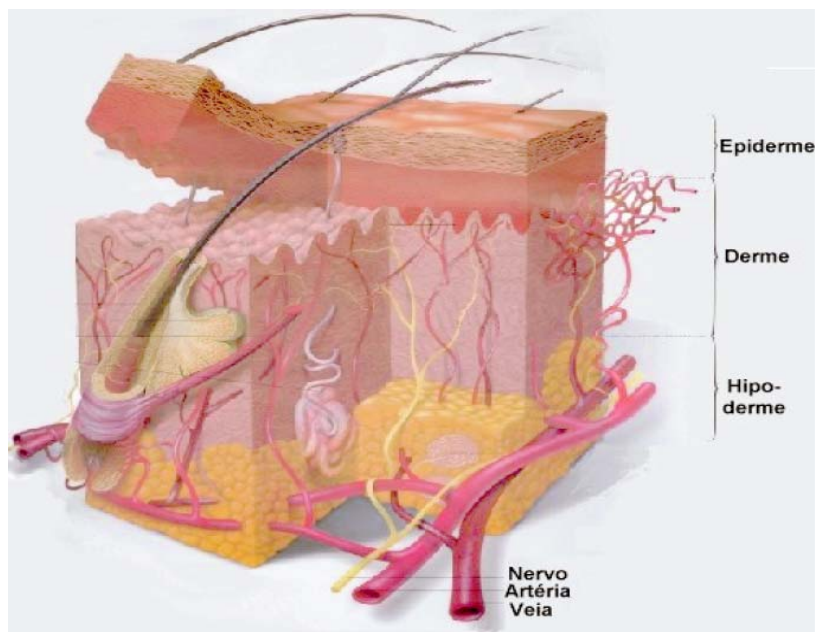


Figura 1. As camadas da pele.
Fonte: Wen (2003).

A epiderme é composta por cinco camadas. O estrato germinativo é a camada mais profunda e a mais importante, pois contém células capazes de divisão mitótica, responsável pela regeneração da epiderme. É neste estrato que se situam os melanócitos, células que formam a melanina, pigmento que dá cor à pele. Já a cor rósea da pele origina-se dos vasos existentes na derme. A presença de caroteno é em parte responsável pela cor amarelada da pele (KEDE; SABATOWICH, 2004).

A cor da pele depende da interação de vários fatores, alguns de ordem genético-racial, como a quantidade de melanina, pigmento responsável pela coloração da pele e outros de caráter individual, regional e ambiental como a coloração própria da epiderme, que quanto mais espessa é menos transparente, parecendo mais amarelada; do grau de pletora sanguínea; de cinco pigmentos primários: melanina, melanóide, oxihemoglobina, hemoglobina e caroteno. A diversidade racial de cor está ligada a diferenças quantitativas de melanina e melanóide (QUIRONGA; GUILLOT, 1986).

A melanina é capaz de conjugar-se com proteína da camada córnea e formar um composto resistente e rígido; deste modo, a pele que é bastante pigmentada torna-se mais resistente a irritações externas. Uma variação no conteúdo da melanina é o principal fator responsável pelas diferenças de cor entre as raças. A pele intensamente pigmentada não contém necessariamente um grande número de melanócitos, mas sim melanócitos mais ativos (KEDE; SABATOWICH, 2004).

A coloração da pele varia segundo a raça e, no indivíduo, conforme a região do corpo, sendo influenciável também pelas condições do meio. O pigmento melânico oferece proteção contra a radiação solar. A espessura é variável segundo a região anatômica, idade e sexo. O tegumento é mais espesso na face posterior do pescoço, onde atinge até 4mm de espessura, e região palmo plantar (até 3mm). Em outras regiões, como o dorso de pés e mãos, antebraço e braço, seios e pálpebras, é menos espesso, sendo mais fino em mulheres e crianças (BEHELLI; CURBAN, 1967). Segundo Fitzpatrick (1976), a cor da pele pode ser classificada em seis tipos de acordo com o fototipo e etnia, variando do tipo I (que corresponde à pele mais branca) até tipo VI (pele negra).

Algumas características peculiares da pele também variam de acordo com a região do corpo. O couro cabeludo e as regiões plantares diferem bastante, não só devido à presença ou ausência de pêlos, mas na espessura da epiderme, número de glândulas sudoríparas, vascularização, textura da derme e inervação. A pele de uma criança difere da pele de um idoso. Em particular, a espessura da epiderme varia nas diferentes partes do corpo entre 75µm e 150µm, com exceção das regiões palmo-plantares onde pode ser de 0,4 – 0,6mm (MILIDIÚ, 1979).

1.1.1 Epiderme

Consiste na camada mais superficial, composta por epitélio escamoso estratificado, e está disposta em quatro camadas: basal ou germinativa, espinhosa ou malpighiana, granulosa e córnea (Figura 2). Dois tipos de células constituem a epiderme: *queratinócitos* e *células dendríticas* (TCHORNOBAY, 1998).

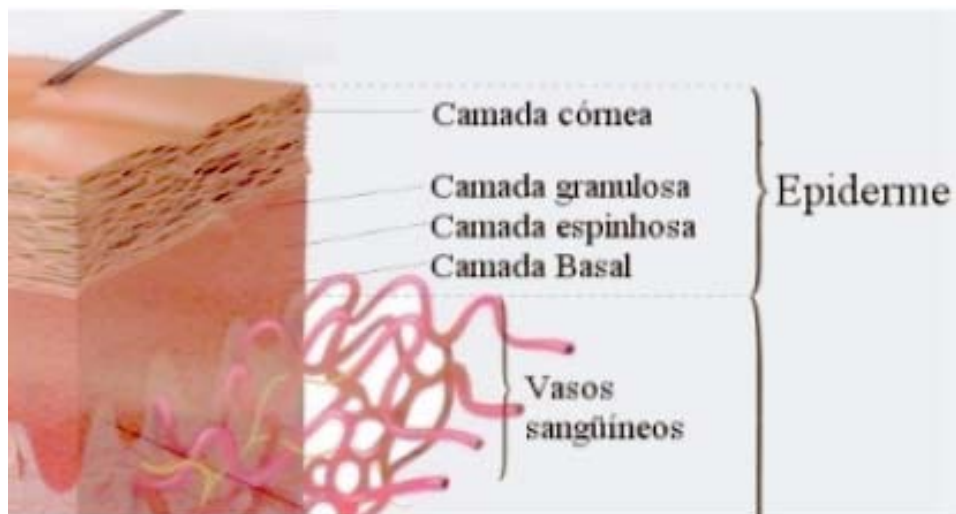


Figura 2. Ilustração das camadas da Epiderme.
Fonte: Wen (2003).

Os queratinócitos, células que têm a atividades essencial de produzir a queratina, estão dispostos nas quatro camadas. Queratinização é a conversão das células granulosa em células queratinizadas, processo que leva cerca de duas a seis horas. Este processo também inclui ruptura nuclear e de outras organelas, além do espessamento da membrana plasmática (MILIDIÚ, 1979).

A camada basal, ao nível da junção dermo-epidérmica, é assentada sobre a membrana basal e constituída por dois tipos de células: as células germinativas a partir das quais, por divisão mitótica, surgem os queratinócitos e os melanócitos. Suas células são pequenas, cúbicas, com citoplasma escasso e basofílico. As células basais têm a importante função de

assegurar a coesão entre a derme e a epiderme e são equipadas para este propósito com processos protoplasmáticos, que se prendem às fibras mesodérmicas da porção superior do corium. Sua membrana celular é equipada com estruturas específicas (hemidesmossomas) na superfície voltada ao mesoderme (Figura 3). As outras superfícies que ficam em contato com outras células basais ou com células espinhosas acima delas são conectadas por desmossomas interligados a tonofilamentos (SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

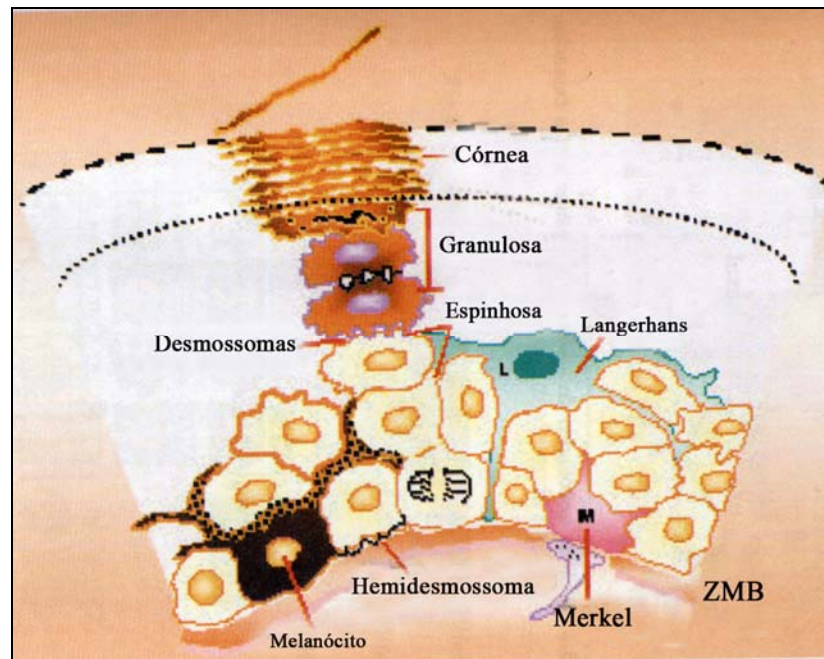


Figura 3. Epiderme e suas estruturas.
Fonte: Okuno e Vilela (2005).

A camada espinhosa é composta de cinco a seis camadas de queratinócitos. As células são maiores que as células basais poliédricas; sendo assim denominadas devido ao aspecto histológico dos espaços intercelulares, as pontes intercelulares que dão a impressão de serem espinhos ao redor das células. Estas pontes intercelulares são ligadas às pontes das células adjacentes por estruturas chamadas desmossomas. Com a diferenciação, os queratinócitos aumentam em tamanho e tornam-se achatados e paralelos à superfície da epiderme (KEDE; SABATOWICH, 2004).

A camada granulosa é a mais superficial da porção não-queratinizada da epiderme; deve seu nome à presença de grânulos querato-hialinos intracelulares muito característicos. Suas células são alongadas. Estes grânulos são constituídos de proteínas ricas em cistina e histidina, e graças à intensa basofilia são facilmente visíveis por microscopia óptica (TCHORNOBAY, 1998).

Na camada córnea costuma haver uma transição abrupta entre as células nucleadas e as células planas e anucleadas. Esta camada compreende de quatro a oito fileiras de células com limites citoplásmaticos indistintos e é toda eosinofílica, contrastando com a camada granulosa. É a porção mais variável em espessura, sendo bastante espessas nas regiões sujeitas a atrito como palmas e plantas (SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

1.1.2 Os melanócitos

Os melanócitos são encontrados entre as células basais, numa média de um melanócito para cada dez células basais. São células produtoras de pigmento, a melanina, que é transferida dos melanócitos para os queratinócitos basais onde é armazenada e mais tarde se degrada, processo este que leva aproximadamente 26 dias. Normalmente, nas células basais a quantidade de melanina presente é maior que nos melanócitos (MILIDIÚ, 1979, OKUNO; VILELA, 2005).

Não há diferença racial no número de melanócitos. Sua densidade, no entanto, é variável nas diferentes regiões do corpo, sendo máxima na face (2000/mm²) e pequena no tronco (800/mm²).

A proliferação de melanócitos é estimulada pelas radiações UV e seu produto, a melanina, é fundamental na proteção da pele contra as agressões das radiações solares. O

mecanismo de proliferação envolve atividade enzimática e hormonal, onde participam o hormônio melanócito-estimulante da hipófise, o hormônio adenocorticotrófico e o estrógeno.

A melanina é produzida em estruturas intracelulares dos melanócitos, chamadas pré-melanossomas. À medida que a melanina aumenta em quantidade, estes pré-melanossomas se tornam obscurecidos, formando grânulos maduros de melanina ou melanossomas. Estes são transferidos aos queratinócitos por fagocitose. Nestes, eles se agrupam sobre o núcleo formando uma tampa de proteção, que absorve a radiação UV antes que essa possa atingir o DNA do núcleo. A distribuição dos melanossomas, bem como seu número, forma, tamanho e quantidade de pigmento em seu interior é que vai determinar a cor da pele, sendo responsáveis pelas diferenças raciais (KEDE; SABATOWICH, 2004).

À medida que os queratinócitos migram para a superfície, os melanossomas e a melanina neles contidos desintegram-se e se perdem com os flocos de queratina na superfície da pele. Na pele mais escura há o mesmo número de melanócitos, mas eles produzem melanossomas maiores, de maior duração e mais amplamente dispersos (SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

Nas pessoas de pele clara, os grânulos de melanina são vistos somente na camada basal. Nos negros, além de localizados na camada basal, a melanina é encontrada em toda a epiderme, inclusive na camada córnea (MILIDIÚ, 1979).

1.2 Radiação Ultravioleta (RUV)

O espectro da radiação solar é amplo e compreende desde raios cósmicos (raios-X) até as radiações infravermelho. No entanto, radiações com comprimento de onda inferiores a

200nm não atingem a Terra por serem absorvidas pela camada de ozônio e oxigênio atmosférico (SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

A radiação UV, assim denominada por Johann Ritter, em 1801 (apud LOW; REED; RIBEIRO, 1999), com comprimentos de onda que variam entre 200 a 400nm, é aquela capaz de provocar fotodermatoses, queimaduras solares e bronzeamento da pele. A radiação UV é amplamente absorvida nas camadas externas da pele, com penetração total de aproximadamente 2mm (BISSCHOP; BISSCHOP; COMMANDRÉ, 2001). A pele constitui uma barreira contra a penetração desta radiação em tecidos mais profundos, portanto seus efeitos mais significativos se limitam à pele e olhos (LOW; REED; RIBEIRO, 1999).

Os comprimentos de ondas que limitam essa região têm concordância internacional e são endossados pelo órgão competente na Inglaterra (National Radiological Protection Board), podendo se observar algumas variações em outras fontes (LOW; REED; RIBEIRO, 1999). O espectro do ultravioleta divide-se em três regiões de acordo com a variação do comprimento de onda e diferentes efeitos biológicos que provocam: ultravioleta A (UVA) de 400nm a 320nm, ultravioleta B (UVB) de 320nm a 280nm e ultravioleta C (UVC) de 280nm a 100nm (KITCHEN; BAZIN, 1998).

O nível de penetração da radiação UV na pele varia conforme a região espectral. A radiação UVC não atinge o homem, sendo absorvida pela camada de ozônio. A radiação UVB é parcialmente (70%) refletida pela camada córnea; a parcela restante (30%) penetra na epiderme, sendo absorvida por queratinócitos e melanina, e apenas uma parcela mínima chega a atingir camadas mais profundas (derme superior). Já a radiação UVA é muito pouco absorvida nas camadas superiores da pele, penetrando até a derme e atingindo estruturas como fibras elásticas, de colágeno, e melanócitos (L'ORÉAL, 2005).

A radiação UVA é capaz de atravessar vidro comum: numa lâmina com 1 mm de espessura, apresenta corte de 50% na transmissão para $\lambda = 316\text{nm}$ (OKUNO;VILELA, 2005). Tem pouca ação eritematosa, porém provoca pigmentação da pele após uma ou duas horas de exposição e induz a alterações precursoras de cânceres de pele, envelhecimento precoce, fotodermatoses e imunossupressão, por atingir a camada mais profunda da pele, a derme, onde localizam-se as fibras elásticas e os melanócitos em desenvolvimento. Em condições fisiológicas normais, são necessárias doses intensas de UVA para provocar eritema. Esta radiação é produzida pela luz solar e por lâmpadas em arco e lâmpadas incandescentes. (SAMPAIO; RIVITTI, 2001, NOHYNEK, 2001).

A radiação UVB provoca eritema de grau variado, relacionado à quantidade de energia recebida, ao tempo de exposição e sensibilidade da pele. É absorvida pela melanina presente na epiderme, que altera sua coloração, resultando no efeito da pigmentação da pele descrito a seguir. É produzida pela luz solar e por lâmpadas de mercúrio e lâmpadas em arco de xenônio. A radiação UVB está relacionada à produção de vitamina D pelo organismo (LOW; REED; RIBEIRO, 1999).

A radiação UVC emitida por raios solares é bloqueada pela camada de ozônio da atmosfera e pode ser produzida artificialmente por lâmpadas de mercúrio. É absorvida por vidro e apresenta poder bactericida. Provoca pouco eritema e pigmentação elevada, porém têm ação altamente cancerígena à pele (BISSCHOP; BISSCHOP; COMMANDRÉ, 2001, KEDE; SABATOWICH, 2004).

A radiação UV constitui um dos maiores riscos para o câncer de pele, podendo causar vários malefícios como queimaduras e envelhecimento precoce até lesões graves (STARY et al, 1997). A camada de ozônio presente na atmosfera constitui uma barreira que filtra as radiações UV; portanto, com a destruição da mesma, a intensidade de radiação UVA e UVB

que atinge a Terra tem aumentado. Esta intensidade depende de vários fatores, como altitude, latitude, estação do ano, condições atmosféricas e hora do dia (GUIRRO; GUIRRO, 2004, ABARCA; CASICCIA, 2002).

1.3 Eritema e bronzeamento

Eritema ou queimadura solar é uma reação aguda da pele caracterizada por hiperemia (vermelhidão), edema e dor local, podendo, em situações mais graves, apresentar formação de bolhas (SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

A formação do eritema é induzida pela absorção de radiação UV e ocorre, em parte, pela liberação de prostaglandinas que se difundem e atuam nos vasos sanguíneos dérmicos, causando dilatação dos mesmos. Outras substâncias participam da formação do eritema como o vasodilatador cutâneo e o ácido nítrico. As histaminas, quininas e outros agentes associados com a resposta inflamatória são liberados dos mastócitos e provavelmente de outros locais da derme (LOW; REED; RIBEIRO, 1999).

A absorção de radiação UV pela pele também gera o efeito de bronzeamento ou melanogênese, que consiste no aumento de pigmentação da pele decorrente das alterações que ocorrem nos melanócitos; estes proliferam, tornam-se maiores e passam a exibir maior concentração de melanina (OKUNO; VILELA, 2005). A pigmentação da pele ocorre como resultado da formação de melanina na região profunda da epiderme e sua migração para as camadas superficiais. É fortemente estimulada pela radiação UVB (em torno de 300nm), que produz eritema e também, em menor extensão, pelos comprimentos de onda mais longos da radiação UVA e mesmo o início do espectro visível (até 450nm).

O aumento no conteúdo de melanina fornece proteção, impedindo que a radiação UV atinja as camadas inferiores da epiderme onde estão situados os queratinócitos em divisão (DIFFEY; OAKLEY, 1987).

Pode-se classificar o bronzeamento em:

i) Imediato – É atribuído ao escurecimento gerado pela fotooxidação da melanina preexistente, após exposição à radiação UV (LOW; REED; RIBEIRO, 1999). Deste modo, indivíduos já pigmentados podem apresentar bronzeamento imediato com apenas dez minutos de exposição, sem o aparecimento do eritema;

ii) Tardio – Ocorre após resolução do eritema, devido à atividade aumentada dos melanócitos, e depende tanto da dose de radiação UV aplicada quanto do nível de pigmentação do indivíduo. Esse processo é observável cerca de três dias após a exposição ao UV (PROTA, 1992, SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

1.4 Classificação de tipos de pele (fototipos)

O eritema pode diferir de acordo com o comprimento de onda a que se expôs e a resposta eritêmica e pigmentar individual (KITCHEN; BAZIN, 1998). A partir da resposta individual, Fitzpatrick estruturou uma classificação dos tipos de pele em categorias (FITZPATRICK, 1976). Tal classificação é aceita e utilizada universalmente até hoje. Esta classificação considera o grau de pigmentação da pele, cor dos cabelos e dos olhos e sensibilidade da pele, permitindo uma subdivisão em seis fototipos, conforme mostra a tabela 1 (KEDE; SABATOWICH, 2004).

Tabela 1. Classificação dos fototipos de pele segundo Fitzpatrick (1976)

<i>Fototipo</i>	<i>Cor dos Cabelos</i>	<i>Cor da Iris</i>	<i>Eritema</i>	<i>Pigmentação</i>
I Muito Clara	Louro	Azul	Sempre se queima	Nunca se bronzeia
II Clara	Ruivo	Azul e verde	Sempre se queima	Às vezes se bronzeia
III Morena Clara	Castanho-claro	Castanho-claro	Queima moderadamente	Bronzeia moderadamente
IV Morena Moderada	Castanho-escuro	Castanho-escuro	Queima pouco	Sempre se bronzeia
V Morena Escura	Castanho-escuro / Negro	Castanho-escuro / Negro	Queima raramente	Sempre se bronzeia
VI Negra	Negro	Negro	Nunca se queima	Totalmente pigmentada

Fonte: Kede e Sabatowich (2004)

Nos olhos, a exposição a radiação UV provoca fotoceratitis e conjuntivites que consiste na inflamação da membrana que reveste a parte interna da pálpebra e a córnea, normalmente acompanhada por eritema peri palpebral. Os sintomas característicos da conjuntivite são: lacrimejamento, fotofobia, sensação de presença de areia nos olhos. Já a fotoceratitis consiste na inflamação da córnea com sintomas de dor intensa e incapacidades visuais transitória, que persistem por aproximadamente dois dias, podendo raramente resultar em lesões permanentes. Muitos casos de fotoceratitis foram descritos após a exposição à radiação emitida por arcos de solda e pelo reflexo da radiação solar na neve ou areia (LOW; REED; RIBEIRO, 1999).

1.5 Índice Ultravioleta

O Índice Ultravioleta (IUV) é um parâmetro adotado para definir a intensidade de radiação UV a que a população está exposta. O IUV mede o nível de exposição à radiação UV solar em termos dos efeitos biológicos causados ao ser humano (KEDE; SABATOWICH, 2004).

Para calcular o IUV, as irradiâncias espectrais (quantidade de energia por unidade de área e por comprimento de onda em $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$, medida através de espectrofotômetro) são calculadas a partir dos parâmetros de entrada: altitude, posição do Sol, tipo de superfície e cobertura de nuvens e aerossóis. A irradiância espectral é ponderada pelo chamado **espectro de ação eritêmica**, que fornece a sensibilidade relativa da pele (para produção de eritema) à radiação UV em função do comprimento de onda incidente. Em outras palavras, o espectro de ação eritêmica é uma curva que dá a resposta biológica da pele humana à radiação UV. A figura 4 mostra o espectro de ação eritêmica, definido em 1987 segundo norma da CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) (HOBBIE, 1997; INPE, 2005).

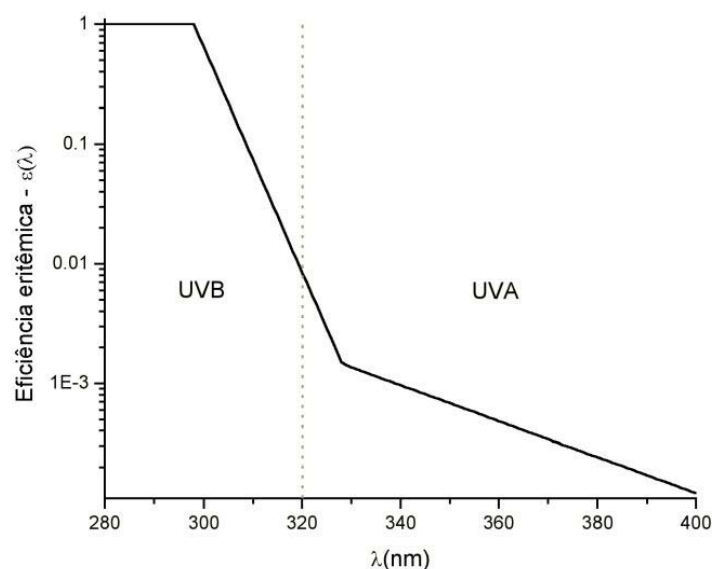


Figura 4. Espectro de ação eritêmica
Fonte: CPTEC (2005)

A irradiância solar ponderada pela curva é integrada no intervalo espectral entre 280 e 400nm (UVB e UVA) e o resultado é o índice de radiação ultravioleta (IUV). O valor do IUV é inversamente proporcional à concentração atmosférica de ozônio na atmosfera, de modo que este parâmetro também pode ser utilizado para avaliar a destruição da camada de ozônio terrestre (KEDE; SABATOWICH, 2004).

O INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais), através do Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC), faz o monitoramento do Índice Ultravioleta (IUV) via satélite. Na tabela 2, pode-se ver os valores de IUV agrupados em categorias, conforme recomendação da Organização Mundial da Saúde-OMS (INPE, 2005).

Tabela 2. Categorias do Índice Ultravioleta

<i>CATEGORIA</i>	<i>ÍNDICE ULTRAVIOLETA</i>
BAIXO	<2
MODERADO	3 a 5
ALTO	6 a 7
MUITO ALTO	8 a 10
EXTREMO	>11

Fonte: INPE (2005)

É importante destacar que o IUV em cidades brasileiras na maior parte do ano é alto ou muito alto. Em São José dos Campos, por exemplo, o IUV é igual a 8 em grande parte dos dias, conforme dados extraídos do site do INPE nos meses de abril e maio de 2005 (INPE, 2005).

1.6 Fotoproteção

O crescimento industrial acelerado das últimas décadas e o uso de cloro fluorcarbonetos como propelentes e outros produtos poluentes tem provocado uma progressiva destruição da camada de ozônio, única proteção atmosférica contra a radiação UV. Segundo a Environmental Protection Agency (EPA) nos EUA, uma diminuição de 5% da camada de ozônio, pode resultar em um aumento de 5 a 8% nos casos de melanoma, 10% nos casos de carcinomas basocelular e 20% nos casos de espinaliomas (NEVES, 2001).

Com os progressivos danos à camada de ozônio, faz-se necessária a utilização de outras formas de proteção contra a exposição excessiva à radiação solar. A proteção solar (ou fotoproteção) é um conjunto de atitudes que consiste em: evitar exposição nos horários de maior insolação; escolher áreas de sombra onde não se enxergue o céu aberto; utilizar roupas adequadas e filtros solares apropriados para cada tipo de pele (GUIRRO; GUIRRO, 2004, KEDE; SABATOWICH, 2004).

A Sociedade Brasileira de Dermatologia, através do Prof. Marcus Maia, propõe o uso de roupas especiais, necessária para as pessoas de pele clara ou mesmo que já foram acometidos pelo câncer da pele. Isto é possível, com roupas e acessórios especialmente confeccionados e tratados para este fim. As roupas comuns não são tratadas e permitem a passagem parcial, e às vezes significativa, de radiação UV (MAIA, 2005).

Além dos problemas com a camada de ozônio, a incidência de cânceres e tumores de pele também tem aumentado nos últimos anos devido à mudança de hábito que vem ocorrendo atualmente com a busca pelo lazer ao ar livre (períodos de férias nas praias, piscinas e clubes) e valorização da pele morena (que passa a ser símbolo de beleza, saúde e sensualidade) (STARY et al, 1997; WOLF et al, 2001). Até o início do século passado a pele

morena estava relacionada ao serviço braçal, sendo desencorajada em classes sociais mais nobres (KEDE; SABATOWICH, 2004).

A progressiva conscientização da população sobre os riscos da exposição excessiva à radiação UV tem aumentado a busca por produtos protetores. Protetores ou filtros solares são substâncias destinadas a proteger a pele da radiação UV produzida pelo sol. Para atender às exigências do mercado, os fabricantes a buscam a melhoria da qualidade e eficácia de seus produtos que devem ser cosmeticamente agradáveis, eficazes, seguros e estáveis. A curto prazo, protegem a pele de queimaduras e alergias solares e, a longo prazo, de envelhecimento e câncer de pele (AROUCA, 2003).

As pesquisas sobre substâncias fotoprotetoras tiveram início por volta da década de 1950, mas somente há aproximadamente 25 anos os produtos fotoprotetores passaram a ganhar confiabilidade por parte dos consumidores, sendo, a partir desse momento, aprimorados para melhor atender as exigências das pessoas. Estudos epidemiológicos demonstram que pessoas idosas que passam a fazer uso sistemático de protetores adequados, reduzem a incidência de lesões actínicas e carcinoma espinocelular (STERN, 1995).

O uso rotineiro de fotoprotetores nos primeiros 18 anos de vida tem um importante impacto na redução do aparecimento de lesões pré-cancerígenas uma vez que os danos actínicos da radiação solar são cumulativos. Com base nessa informação, torna-se importante a conscientização e orientação de crianças e adolescentes, em relação ao uso de protetores solares como hábito diário (KIM, 2001). A fotoproteção deve ser iniciada logo após os seis meses de idade, sendo que antes dessa idade, a exposição solar é desaconselhada (ROBINSON; RIGEL; AMONETTE, 2000, NOHYNEK; SCHAEFER, 2001).

Uma das características importante que se espera dos protetores solares é de que sejam fotoestáveis. As substâncias empregadas para impedir que a radiação UV atinja as camadas da

pele sofrem uma fotodegradação natural. Fotoestabilidade é a capacidade que o produto tem de permanecer por grande tempo na pele sem se degradar na presença da radiação (MONTERO; HERVELLA, 2001, NOHYNEK; SCHAEFER, 2001).

Segundo Santos (1998), são requisitos fundamentais do protetor solar: i) absorver radiação UVA e UVB; ii) apresentar boa substantividade, ou seja, aderir bem à epiderme; iii) não manchar vestuários; e iv) ser quimicamente estável (apresentar fotoestabilidade). Os fatores que podem interferir na fotoestabilidade do produto incluem desde o uso incorreto por parte do consumidor até fatores ambientais como vento, umidade, água, transpiração, atritos, entre outros (KEDE; SABATOWICH, 2004).

O Fator de Proteção Solar (FPS), presente nos protetores solares, indica quanto tempo uma pessoa pode ficar exposta ao sol após aplicação do produto sem sofrer a ação eritematosa da radiação UVB. Para peles mais claras, o tempo de exposição solar necessária para queimá-la é menor que para peles morenas que apresentam maior resistência; assim, as peles mais claras necessitam de filtros com FPS mais altos, enquanto que nas peles morenas (mais resistentes) um FPS mais baixo é suficiente (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

Na resolução RDC nº 237, de 22 de Agosto de 2002, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), estabelece e atualiza os critérios que classificam o FPS dos produtos para cada tipo de pele. A tabela 3 demonstra a classificação normatizada como recomendação pedagógica mínima ao consumidor utilizando a classificação de fototipos de pele de Fitzpatrick. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Tabela 3. Classificação dos tipos de pele e FPS apropriado.

Fototipos de Pele e Fatores de Proteção Solar Recomendados			
Fototipos de Pele	Comportamento da pele à radiação solar	Proteção Recomendada	FPS Recomendado
Pouco Sensível (VI)	Raramente apresenta eritema	Baixa	2 < 6
Sensível (IV e V)	Ocasionalmente apresenta eritema	Moderada	6 < 12
Muito Sensível (III)	Freqüentemente apresenta eritema	Alta	12 < 20
Extremamente Sensível (I e II)	Sempre apresenta eritema	Muito Alta	20

Fonte: Ministério da Saúde (2002)

Cada protetor solar é caracterizado por um Fator de Proteção Solar (FPS), que indica a efetividade da proteção contra a radiação UVB (quanto maior o FPS, maior a proteção). O FPS é calculado dividindo-se a dose mínima de radiação UV capaz de provocar eritema (DEM) na pele protegida por protetor solar pela dose mínima de radiação capaz de produzir eritema na pele desprotegida (COUTEAU et al, 2001):

$$\text{FPS} = \frac{\text{DEM da pele protegida}}{\text{DEM da pele não protegida}} \quad (\text{Eq.1.1})$$

É importante observar que, como é definido a partir do eritema, o FPS indica basicamente a proteção contra UVB, não sendo uma medida eficaz em relação à radiação UVA (SPRINGSTEEN et al, 1999). Por não produzir eritema imediato, não existe um sistema de caracterização que determine a proteção do produto em relação a radiação UVA. Estudos

recentes têm demonstrado que, além da ação cancerígena, a radiação UVA tem um espectro de ação que atinge camadas mais profundas, como a derme e provoca danos crônicos às fibras elásticas e colágenas induzindo um envelhecimento precoce. (KEDE; SABATOWICH, 2004). Além disso, a radiação UVA atua durante todo o dia, mesmo quando não temos a percepção de sol intenso. Assim, é equivocada a idéia de que se deve utilizar o protetor solar apenas nos dias de sol intenso (STARY et al, 1997).

A FDA (Food and Drug Administration) recomenda o uso do FPS 30 como fator máximo indicado, pois há trabalhos mostrando que a adição de maior quantidade de substância ativa não melhora substancialmente a eficácia da proteção. Sabe-se que o FPS 15 bloqueia 87% da radiação UV, o FPS 30 bloqueia 96% e o FPS 60 chega a 98% de proteção, com um acréscimo significativo na quantidade de substância ativa. Concentrações muito altas destas substâncias ativas podem levar a fotoalergias e até carcinogênese (AMBLARD; BÉANI, 1994, NEVES; LUPI; TALHARI, 2001).

Para que a proteção proposta pelos fabricantes de protetores solares seja efetiva, é necessário que o usuário observe alguns fatores importantes, como tipo adequado para seu tipo de pele, quantidade de produto aplicado, forma de aplicação e reaplicação, entre outros. Estudos têm demonstrado que poucos consumidores de protetores solares utilizam corretamente o produto (DEBUYS et al, 2000). Com respeito à quantidade, segundo a FDA (Food and Drug Administration) a quantidade a ser aplicada no corpo humano corresponde a $2\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ou $20\text{mL}/\text{m}^2$ (FDA, 1978). O corpo humano apresenta uma superfície de aproximadamente $1,5\text{m}^2$ de pele. Em situações de exposição deliberada ao sol, como passeios na praia, pode-se supor que cerca de 80% do corpo fica exposto diretamente ao sol. (STARY et al, 1997, COUTEAU et al, 2001) Temos então:

$$2\mu\text{L}/\text{cm}^2 = 20\text{mL}/\text{m}^2 = X / 1,5 \text{ m}^2 \cdot 0,8 \rightarrow X \sim 25\text{mL} \text{ para o corpo}$$

Deste modo, para proteção de todo o corpo necessita-se de 25mL de protetor solar. De acordo com estudos recentes, a maioria dos consumidores aplica quantidades bem inferiores às indicadas, o que pode fazer com que o FPS efetivo do produto aplicado seja inferior ao indicado no rótulo (WOLF et al, 2001; OKUNO; VILELA, 2005).

Alguns fatores reduzem o tempo de ação do protetor, como transpiração intensa e o contato com água, devendo o usuário, nessas situações, reaplicar o protetor com maior frequência. Em média, a reaplicação deve ser feita após intervalos de 3 a 4 horas (SANTOS; SANT'ANNA; CARVALHO, 1998). Devido a essa degradação do protetor, os fabricantes de protetores em geral recomendam a reaplicação a cada duas horas (STOKES; DIFFEY, 1999, AROUCA, 2003).

Tem ocorrido um acréscimo na incidência de melanomas em usuários de fotoprotetores e admite-se que seja devido ao fato do uso do protetor permitir uma maior permanência das pessoas à exposição solar sem causar queimaduras, portanto, sem considerar que os fatores relacionados ao uso correto de protetores e também ao fato de que a maioria dos produtos apresentam uma excelente proteção em relação a radiação UVB, aumentando a exposição final ao UVA (AUTIER et al, 1999).

1.6.1 Protetores solares físicos e químicos: composição

Os protetores solares minimizam danos tardios como carcinogênese e envelhecimento precoce, protegendo a estrutura e as funções celulares ao absorverem ou dissiparem a radiação UV. Protetores ou filtros solares podem ser compostos por substâncias químicas que absorvem a radiação e substâncias físicas que a dissipam por reflexão (KEDE; SABATOWICH, 2004).

FILTROS QUÍMICOS – Os filtros químicos agem através da absorção da radiação UV, dissipando a respectiva energia sob a forma de calor. Quando aplicados à pele, permanecem na camada córnea e exercem sua ação através da capacidade de absorver fótons UVB ou UVA. Exemplos mais comuns são: Ácido para-aminobenzóico e derivados, que absorvem somente na faixa de UVB e não são aceitos por provocarem manchas em vestuários; cinamatos que também absorvem somente radiações UVB; benzofenonas, que absorvem bem as radiações UVB, porém estendendo-se até comprimentos de até 350nm; salicilatos, absorvem na faixa de 290nm a 311nm e têm pouca fotoestabilidade em contato com o ar; dibenzoilmetanos, que absorvem predominantemente na faixa das radiações UVA, sendo normalmente utilizados em associação com outras substâncias que absorvem UVB (SPDV, 2002).

FILTROS FÍSICOS – Os filtros físicos são substâncias opacas que formam uma película sobre a pele e refletem a luz, sendo pouco aceitos cosmeticamente por serem mais espessos e de difícil aplicação. No entanto, apresentam menor sensibilização e são eficazes num amplo intervalo de comprimentos de onda (incluindo UVA e UVB). Exemplos mais comuns são os de dióxido de titânio, óxido de zinco, óxido de magnésio, caulicno e ictiol. Os protetores físicos dissipam os raios solares que incidem sobre a pele protegida (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

1.7 Efeito Fotoacústico

A técnica fotoacústica permite o estudo de propriedades ópticas e térmicas de materiais através da análise do sinal produzido pela absorção de luz modulada por uma amostra. O efeito fotoacústico foi descoberto por Alexander Graham Bell em 1880, ao perceber que a incidência de luz modulada em uma superfície sólida em forma de diafragma

produzia som. Observando este efeito, Bell mostrou que a intensidade do sinal acústico dependia da absorção da luz pelo material no qual era incidida (BARJA, 1996).

Até o século XIX, sabia-se que o aquecimento de um gás provocado pela absorção de luz numa câmara fechada gerava mudanças de pressão e volume dentro desta. Neste contexto, o efeito fotoacústico em sólidos e líquidos foi alvo de diversas teorias. Rayleigh defendia a hipótese de que o fenômeno se devia a um movimento mecânico no sólido. Bell acreditava que a luz modulada incidente numa amostra porosa expandia suas partículas, provocando um ciclo de expulsão e reabsorção do ar nos poros. Bell e Rayleigh foram contestados por Preece, que sugeriu que o efeito fotoacústico seria resultado da expansão e contração do gás dentro de uma câmara (MESQUITA, 2005).

O efeito fotoacústico consiste na geração de ondas acústicas e efeitos termoelásticos por qualquer tipo de material que absorva radiação sob uma de diferentes formas (radiação eletromagnética - de ondas de rádio a raios-x -, ultra-som, feixes de elétrons ou prótons). Através da geração de ondas térmicas ou acústicas, pode-se obter informação sobre propriedades termoelásticas e outras propriedades físicas dos materiais, como elasticidade, temperatura, velocidade do som, difusividade e efusividade térmicas, entre outras (ROSENCWAIG; GERSHO, 1976).

O modelo aceito para explicar o efeito fotoacústico em sólidos é o modelo do “pistão acústico” proposto por Rosencwaig e Gersho em 1976, e que é por isso conhecido como o modelo Rosencwaig-Gersho. Neste modelo, a luz modulada é absorvida pela amostra e convertida total ou parcialmente em calor. O calor modulado produzido na amostra difunde-se até o gás em contato com esta, dentro da célula fotoacústica. O modelo Rosencwaig-Gersho assume que, com a difusão do calor da amostra para o gás adjacente, a camada de gás mais próxima da amostra sofre expansão e contração periódicas, atuando como um pistão

vibratório no restante do gás. Numa câmara fechada, as variações de pressão assim produzidas geram ondas acústicas, que podem ser captadas por um microfone (ROSENCWAIG; GERSHO, 1976).

Para descrever a variação da temperatura com o tempo, é necessário levar em conta a conservação local de energia, o que origina a equação de difusão térmica. A equação de difusão térmica unidimensional é dada por:

$$(1/\alpha) \partial T(x,t)/\partial t = \partial^2 T(x,t)/\partial x^2 + s(x,t)/k \quad (\text{Eq.1.2})$$

onde α é a difusividade térmica (em $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$), k é a condutividade térmica (em $\text{W.cm}^{-1}.\text{K}^{-1}$), T é a temperatura, t é o tempo e r é a distância de propagação. O último termo da equação é o chamado “termo de fonte”, sendo nulo em regiões onde não há fonte de calor.

A solução matemática para a variação de temperatura na amostra e na camada de ar adjacente mostra que ela se comporta como uma onda evanescente espacial, o que significa que ela diminui exponencialmente com a distância relativa ao ponto de absorção da luz. Isto permite definir o chamado *comprimento de difusão térmica* e dois regimes térmicos: se o comprimento de difusão térmica for maior que a espessura do material, diz-se que o regime é termicamente fino; caso contrário, o regime é chamado de termicamente grosso. O comprimento de difusão térmica depende da frequência de modulação da luz, de tal modo que o aumento da frequência de modulação permite passar do regime termicamente fino ao termicamente grosso (BARJA, 1996).

Na solução matemática do modelo de Rosencwaig-Gersho, a expressão para a amplitude complexa da temperatura é a seguinte:

$$Q = \frac{\beta I_0 \gamma P_0}{2\sqrt{2}k_s l_g a_g T_0 (\beta^2 - \sigma^2)} \left(\frac{(r-1)(b+1)e^{\sigma s l} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma s l} + 2(b-r)e^{-\beta l}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma s l} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma s l}} \right) \quad (\text{Eq.1.3})$$

Nesta expressão, β é o coeficiente de absorção óptica da amostra analisada, I_0 é intensidade da radiação incidente, γ é o quociente dos calores específicos, P_0 é a pressão atmosférica, k_A é a condutividade térmica e l_A , a espessura do material A , T_0 é a temperatura ambiente, $\sigma_A = (1+i) a_A$, $a_A = (\omega / 2\alpha_A)^{1/2}$ é o coeficiente de difusão térmica do material A , $b = k_b a_b / k_s a_s$, $g = k_g a_g / k_s a_s$ e $r = (1-i)(\beta / 2\alpha_s)$. Os índices s, g e b são usados respectivamente para amostra sólida, gás da câmara e base da câmara.

Embora esta expressão seja bastante complexa, uma análise das aproximações utilizadas para diferentes configurações experimentais mostra que, para amostra opaca e termicamente grossa, no caso de interesse para o presente trabalho, o sinal é proporcional ao coeficiente de absorção da amostra (β), o que permite obter o espectro fotoacústico de absorção das amostras analisadas (ROSENCWAIG, 1980).

A técnica fotoacústica consiste num valioso método para a caracterização de vários tipos de materiais, oferecendo, em muitos casos, significativas vantagens sobre técnicas tradicionais (DELGADO; VASALLO; MARÍN, 1998). Tem sido utilizada com sucesso no estudo de materiais biológicos como membranas, amostras ósseas ou estruturas de tecidos que são insolúveis ou sofrem alterações significativas quando solubilizados, dificultando a obtenção de dados por técnicas convencionais. A técnica fotoacústica possibilita a análise destes tecidos biológicos intactos, constituindo assim uma importante ferramenta de pesquisa e diagnóstico. Outra vantagem da técnica fotoacústica é que o sinal produzido depende da radiação efetivamente absorvida pela amostra sob estudo, permitindo o estudo mesmo de amostras altamente espalhadoras como é o caso de tecidos biológicos (ANJOS et al, 2004).

A espectroscopia fotoacústica tem sido utilizada na caracterização da pele humana, bem como nos estudos de penetração de fármacos de uso tópico. O uso da fotoacústica na dermatologia não é novidade, tendo iniciado em 1977 com Rosencwaig. Os estudos

envolvendo aplicação de cosméticos começaram em 1978 e um dos temas de interesse é a análise do fator de proteção ultra-violeta (UV) dos protetores solares (BERNENGO et al, 1998).

OBJETIVO

2. OBJETIVO

Obter a curva de absorção de um protetor solar comercialmente disponível aplicado à pele (espectro de absorção *in situ*).

Avaliar, através da técnica fotoacústica, a fotoestabilidade de um protetor solar comercialmente disponível, através de medidas realizadas em diferentes períodos de tempo após aplicação do produto em amostras de pele.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O material e os métodos utilizados para avaliar os efeitos da incidência da radiação ultravioleta na pele após a aplicação do protetor solar são descritos a seguir.

3.1 Amostras utilizadas

3.1.1 Amostras de pele

Utilizou-se amostras de pele proveniente de cirurgias plásticas reparadoras de abdome realizadas no Hospital e Maternidade Policlínica de São José dos Campos, fornecidas pelo Dr. Aluísio de Oliveira Fernandes, diretor clínico da instituição (autorização para uso das amostras no Anexo A). O indivíduo que submeteu-se à cirurgia reparadora que deu origem às amostras foi orientado em relação aos objetivos e riscos da pesquisa e assinou o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B).

Todas as amostras de pele obtidas foram conservadas em soro fisiológico 0,9%, sendo mantidas sob refrigeração (temperatura entre 2^oC e 4^oC) por um prazo máximo de 48h e, após utilização, devolvidas à instituição de origem para descarte.

3.1.2 Protetor solar

No início do estudo, foram realizadas medidas preliminares para obtenção do espectro fotoacústico de absorção de protetores solares isolados com diferentes fatores de proteção (CRUZ; ACOSTA-AVALOS; BARJA, 2005). No decorrer do trabalho, para a realização das medidas de protetor solar aplicado à pele, optou-se por utilizar um protetor solar de FPS 15 de marca reconhecida e aprovada pela Anvisa, que regulamenta a comercialização de medicamentos e cosméticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Os componentes ativos do protetor utilizado são: 1) metoxicinamato de octila 6,5%, filtro químico que absorve na região de UVB e possui baixa fotoestabilidade na presença da água; 2) oxibenzona 2,75%, filtro químico que absorve radiação UVB e parcialmente UVA; 3) salicilato de octila 1,0% filtro químico que absorve radiações UVB, porém com baixa fotoestabilidade na presença do ar da água e 4) dióxido de titânio 1,0%, filtro físico, que constitui barreira contra a penetração da radiação UVA e UVB e possui boa fotoestabilidade (SPDV, 2002).

3.2 Montagem experimental

3.2.1 Medidas de espectroscopia fotoacústica

Nas medidas de espectroscopia fotoacústica, utilizou-se uma montagem fotoacústica composta dos seguintes equipamentos: lâmpada arco de xenônio (Oriol, modelo 6128, 1000W); modulador mecânico (PAR, modelo 192); amplificador síncrono (PAR/EG&G, modelo 5210), monocromador (Oriol, modelo 77250), célula fotoacústica fechada convencional (fabricada no IFGW/ Unicamp); microfone B&K 4179 e um microcomputador para aquisição dos dados. A figura 5 mostra a configuração experimental utilizada.

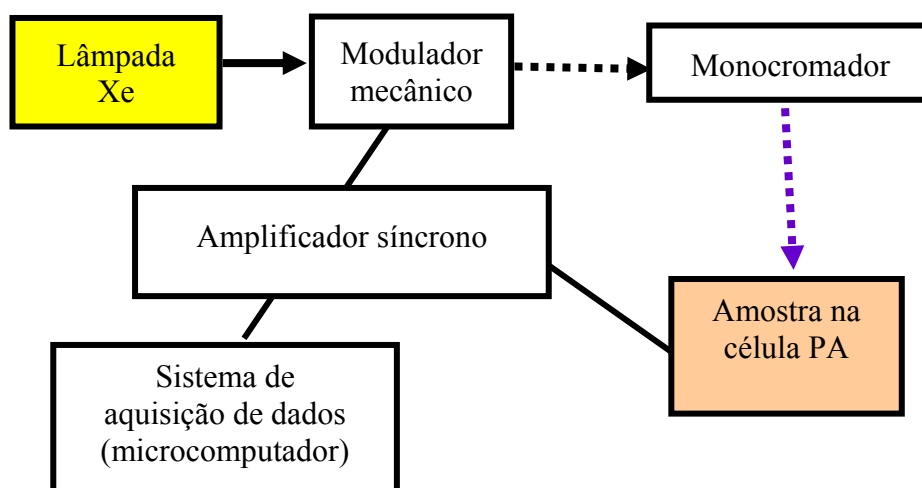


Figura 5. Ilustração esquemática da montagem fotoacústica. Laboratório de Fototérmica e Ressonância Magnética do Instituto de Física *Gleb Wataghin* (IFGW), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

3.2.2 Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo

Nas medidas do nível de sinal fotoacústico em função do tempo, utilizou-se a montagem descrita a seguir (Figura 6). A luz emitida por uma lâmpada de tungstênio (Remari, 24V-250W) atravessa uma lente convergente de vidro (Schneider-Kreuznach), passando por um modulador mecânico (Stanford Research Systems, modelo SR540) com uma célula fotoelétrica responsável pelo sinal de referência da modulação. A fase do sinal fotoacústico é dada em relação a esta referência.

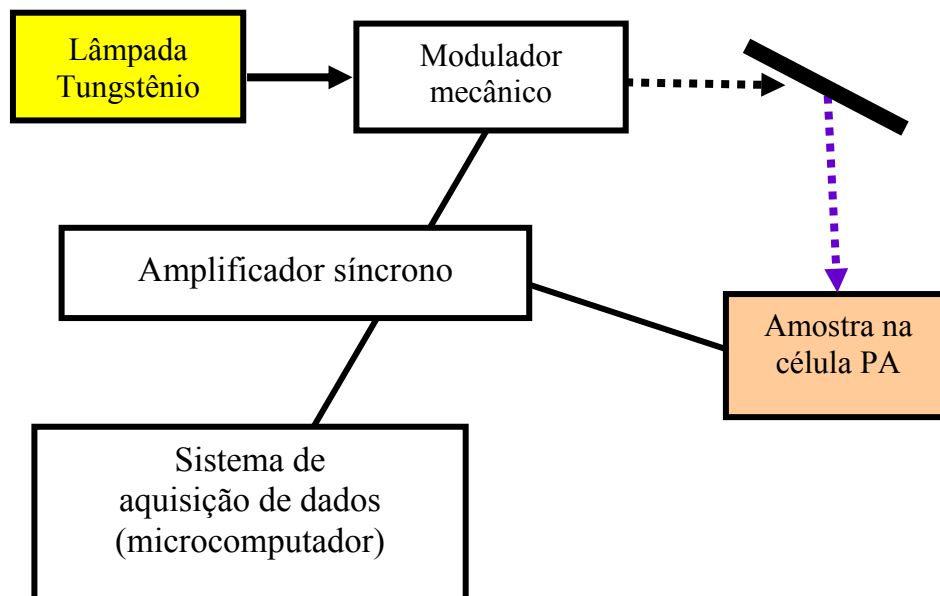


Figura 6. Ilustração esquemática da montagem fotoacústica. Laboratório de Fotoacústica do IP&D da UNIVAP, na cidade de São José dos Campos.

As lâmpadas de tungstênio ou tungstênio-halogênio emitem radiação com comprimento de onda a partir de 350nm, apresentando, portanto, baixa emissão de UV, conforme mostra a figura 7.

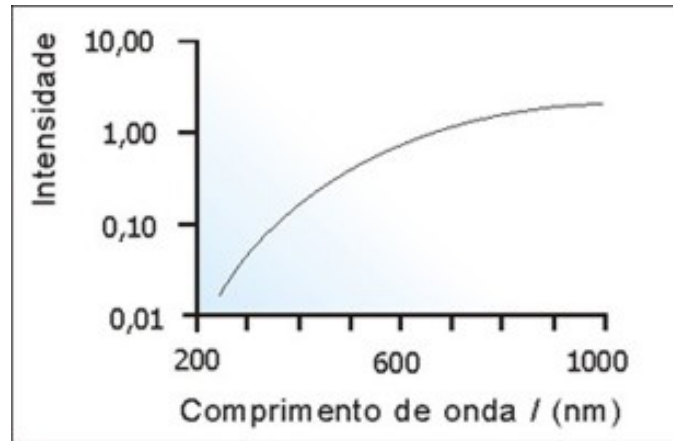


Figura 7. Espectro de emissão da lâmpada de tungstênio.
Fonte: Atvars; Marteli, (2002)

Foi utilizada uma célula fotoacústica de duas faces (Figura 8). A amostra de pele foi posicionada no interior da célula. A absorção de luz pela amostra gera modulação de temperatura que se propaga para o ar em contato com a amostra, produzindo as ondas acústicas na câmara. Estas ondas são transmitidas por um canal de ar até o microfone localizado no interior da câmara. A célula fotoacústica empregada utiliza como detetor um microfone de eletreto comercial; este tipo de microfone apresenta uma sensibilidade da ordem de 10mV/Pa. Para vedar a câmara, aplicou-se graxa de silicone na borda da câmara, fechando-a em seguida com uma lâmina de vidro.

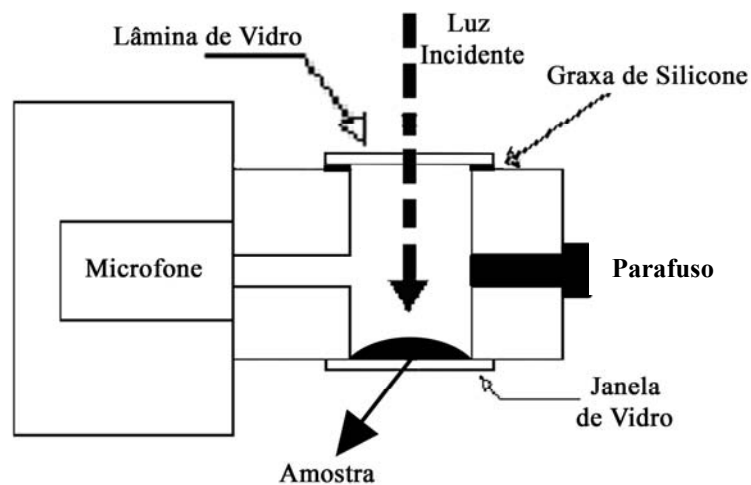


Figura 8. Ilustração esquemática da célula de duas faces.

O modulador mecânico e o microfone da célula fotoacústica foram conectados ao amplificador síncrono (Stanford Research Systems, modelo SR530), que deste modo recebe as informações sobre a frequência de referência e o sinal fotoacústico. O amplificador foi conectado a um microcomputador (via porta serial RS232) para aquisição dos dados experimentais.

3.2.3 Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando Simulador solar

Utilizou-se, em parte do trabalho experimental, um simulador solar da marca Solar Light Co. que fabrica simuladores solares e detectores de UVB, UVA e luz visível, além de outros produtos. O simulador utilizado do modelo 16S, reproduz precisamente o espectro UV do sol em países tropicais (figura 9), com intensidade 15 a 20 vezes maior, eliminando os componentes da luz visível e infravermelho. Este simulador é utilizado por indústrias farmacêuticas e de cosméticos. Possui várias aplicações, como: definição do FPS de protetores solares; testes de sensibilidade à luz; diagnóstico de lesões dermatológicas e testes de fotoestabilidade de produtos aplicados à pele, que consiste em medir o nível de degradação do produto, na presença da luz UV (SOLAR LIGHT CO., 2005).

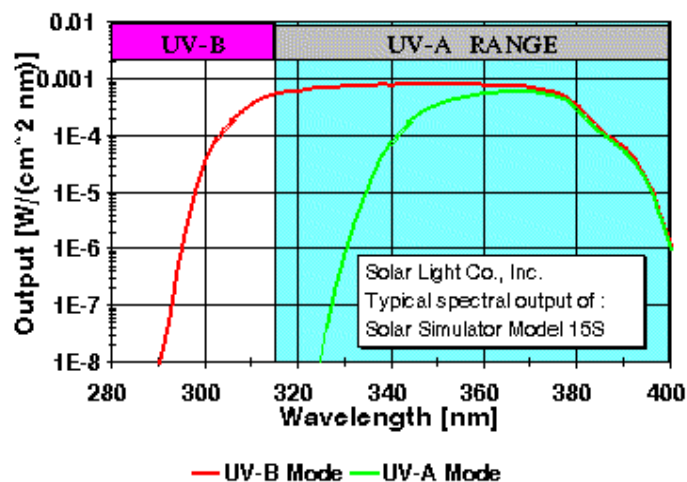


Figura 9. Espectro do simulador solar, modelo 16S.
Fonte: Solar light CO. (2005).

O equipamento é composto por uma lâmpada de arco de xenônio de 150W conectada a uma fonte de energia que estabiliza a lâmpada em nível pré-determinado, acoplada a um monitor externo. Este monitor permite regular o tempo de irradiação conforme a dose de energia luminosa que se deseja aplicar sobre a amostra. A figura 10 mostra o esquema da montagem.

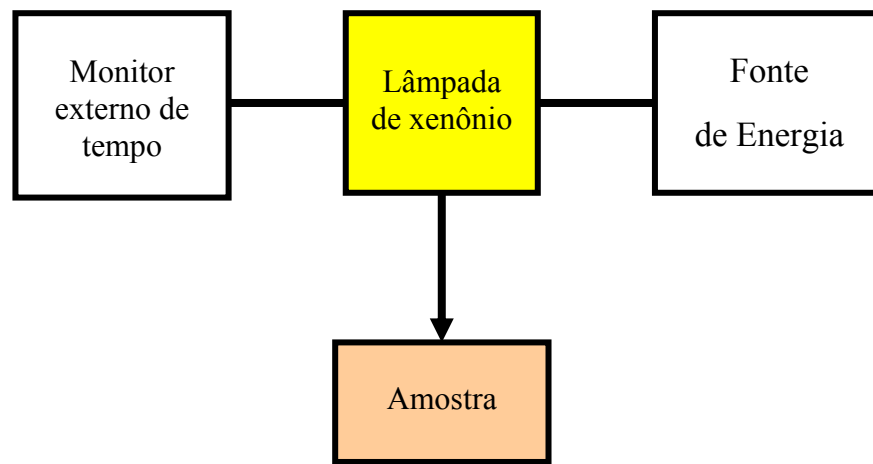


Figura 10. Ilustração esquemática do simulador solar

O simulador solar foi utilizado para, em poucos minutos, fornecer uma dose de irradiação correspondente a várias horas de exposição solar (2h, 4h, 6h e 8h). Na montagem anteriormente descrita para as medidas fotoacústicas em função do tempo o simulador solar substituiu a lâmpada de tungstênio como fonte de luz.

3.3 Procedimento experimental

3.3.1 Medidas de espectroscopia fotoacústica

As medidas de espectroscopia fotoacústica foram realizadas no Laboratório de Fototérmica e Ressonância Magnética do Instituto de Física *Gleb Wataghin* (IFGW),

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas. Os equipamentos tiveram o uso autorizado pelo coordenador do referido laboratório, Prof. Dr. Edson Corrêa da Silva (ANEXO C). A análise dos dados foi realizada no Laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D II) da UNIVAP. Os dados gerados foram analisados através do software Microcal Origin®.

Para as medidas de espectroscopia fotoacústica, inicialmente é necessário obter o espectro de emissão da lâmpada utilizada (xenônio), para que as demais medidas sejam normalizadas em relação a este espectro. O espectro de emissão foi obtido colocando-se carvão em pó na câmara fotoacústica e realizando em seguida a varredura espectral no intervalo desejado (região ultravioleta). Este procedimento foi adotado no início de cada série de medidas, uma vez que o espectro de emissão pode variar com o tempo de utilização da lâmpada.

Também foram feitas medidas espectroscópicas utilizando-se como amostra o soro fisiológico 0,9%, com o intuito de verificar se o soro poderia influenciar na resposta das amostras na região espectral de interesse.

Em seguida, foi obtido o espectro fotoacústico de absorção isoladamente para as amostras de pele. As medidas foram realizadas em amostras de pele tipo I (conforme a classificação de Fitzpatrick, apresentada na Introdução), da região do abdome. As amostras foram previamente preparadas em cortes de 1cm^2 de superfície e 0,5mm de espessura, com o auxílio de um molde (recortador), com as mesmas medidas da célula fotoacústica utilizada para as medições.

Após a obtenção das respostas isoladas de amostras de pele e filtro solar, obteve-se o espectro fotoacústico de absorção do sistema pele + produto aplicado. Para isso, aplicou-se às amostras o protetor solar, em quantidade suficiente para formar um filme homogêneo sobre a

superfície da pele. Para se obter a aplicação de quantidade recomendada (como descrito na introdução), foi preparado uma amostra de pele de 5cm^2 e aplicado $10\mu\text{L}$ de protetor. O mesmo foi espalhado uniformemente com a mão enluvada. Para se obter a quantidade de $10\mu\text{L}$ foi utilizada uma seringa de insulina de $0,5\text{mL}$, subdividida em 50U. Foi aplicado sobre a amostra 1U que corresponde a $10\mu\text{l}$ de protetor. Em seguida, foi recortada uma amostra com 1cm^2 e realizada a medida do espectro fotoacústico do sistema pele+protetor.

Cada amostra preparada foi posicionada na célula fotoacústica para varredura espectral entre 270nm e 400nm, que corresponde a grande parte do espectro da radiação UV emitida pelo sol (UVA e UVB). A luz foi modulada mecanicamente a uma frequência de 19Hz para as medidas fotoacústicas, gerando um sinal correspondente à espessura do comprimento de difusão térmica da pele para esta frequência. Este comprimento é calculado a partir da difusividade térmica da pele. Diferentes referências bibliográficas apontam diferentes valores para este parâmetro; adotou-se, para o presente trabalho, o valor médio de $30\mu\text{m}$ para o comprimento de difusão térmica da pele a 19Hz (BERNENGO et al, 1998; HAHN et al, 2001; PEDROCHI et al., 2005).

Finalmente, após a obtenção dos espectros de absorção do sistema pele+protetor, foi possível obter o chamado espectro do protetor solar *in situ*, ou seja, aplicado à pele. Isto é feito calculando-se a diferença entre a curva de absorção do sistema pele+protetor e a curva de absorção da epiderme isolada (ROSENCWAIG, 1980; ANJOS et al, 2004).

Após a realização das medidas, a fotoestabilidade do protetor solar aplicado foi avaliada através do cálculo da área sob a curva de absorção para diferentes tempos após aplicação do produto sobre a pele.

3.3.2 Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando lâmpada de tungstênio como fonte de luz

As medidas do sinal fotoacústico em função do tempo foram realizadas no laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos do IP&D da UNIVAP, na cidade de São José dos Campos.

Foram realizadas medidas em amostras de pele tipo 1, da região do abdome. As amostras foram previamente preparadas em cortes de $0,25\text{cm}^2$ de superfície e $0,5\text{mm}$ de espessura, utilizando-se bisturi cirúrgico.

A frequência de modulação utilizada foi de 19Hz . Cada medida corresponde a um total de 100 pontos, com intervalo de dois segundos entre os pontos. A evolução temporal foi avaliada para um tempo máximo de sete horas, com intervalo de uma hora entre as medidas.

Para cada amostra, monitorou-se a evolução temporal do sinal fotoacústico alternadamente para cortes sem aplicação de protetor solar e para cortes onde foi aplicado o protetor solar. Nas amostras que receberam aplicação do protetor solar, aplicou-se $1\mu\text{L}/\text{cm}^2$ a cada amostra, o que corresponde a metade da dose recomendada pela FDA, uma vez que, segundo Wolf, o consumidor tipicamente aplica menos da metade da quantidade recomendada (COUTEAU et al, 2001; WOLF et al, 2001).

Os dados obtidos foram analisados através do software Microcal Origin®.

3.3.3 Medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando simulador solar como fonte de luz

Nas medidas utilizando o simulador solar as amostras, estas foram preparadas de maneira semelhante ao processo anterior (item 3.3.2) e posicionadas numa célula fotoacústica

de duas faces. Após a primeira medida do sinal fotoacústico, a amostra foi exposta à radiação UVA e UVB proveniente do simulador solar. O aparelho foi calibrado de modo a gerar uma dose total de 20J a cada três minutos, o que corresponderia a duas horas de exposição solar numa latitude de 20°.

O simulador solar foi posicionado na bancada da montagem fotoacústica. A célula fotoacústica contendo a amostra foi mantida a uma distância de seis centímetros da saída de luz do simulador. Durante as medidas, a luz foi modulada mecanicamente através da hélice do modulador, situada entre a célula e a lâmpada (Figura 11). Após a medida, a amostra foi submetida novamente à irradiação de 20J, totalizando uma irradiação de 40J, correspondente a quatro horas de exposição, sendo, então realizada nova medida do sinal fotoacústico. Repetiu-se o procedimento, para obtenção de uma irradiação de 60J e 80J que correspondem respectivamente a seis e oito horas de exposição. Após cada período de irradiação, realizou-se a correspondente medida do sinal fotoacústico.

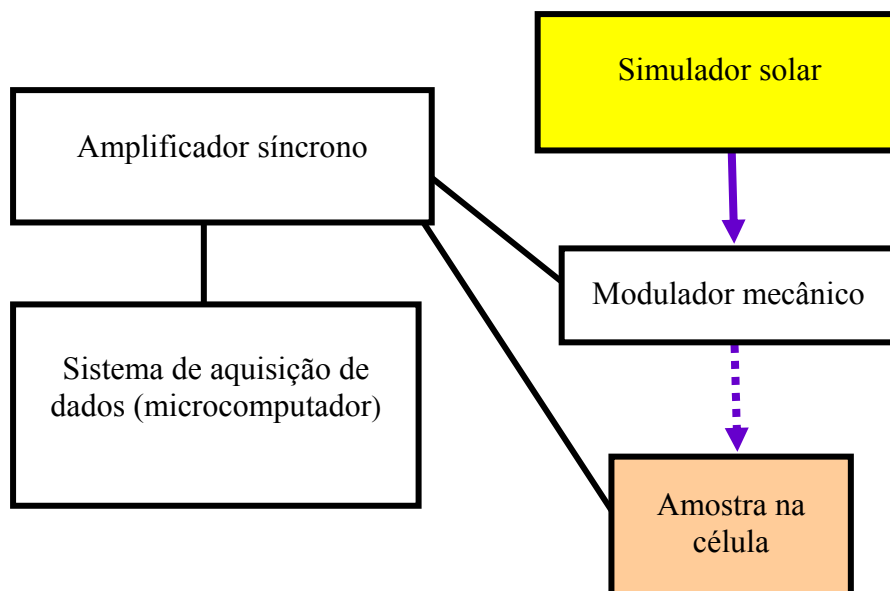


Figura 11. Ilustração esquemática da montagem fotoacústica utilizando simulador solar como fonte de luz.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira fase do trabalho, realizada no Laboratório de Fototérmica e Ressonância Magnética do Instituto de Física *Gleb Wataghin* (IFGW), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), efetuou-se medidas de espectroscopia fotoacústica para obter as curvas de absorção das amostras e do sistema pele+protetor, que apresentaremos a seguir. Na segunda fase, executada no Laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D II) da UNIVAP, foram realizadas as medidas do sinal fotoacústico em função do tempo. Nesta fase realizaram-se medidas utilizando-se somente a lâmpada de tungstênio da montagem fotoacústica, como fonte de luz e medidas utilizando-se do simulador solar como fonte de luz para irradiação das amostras e durante as medidas, para obtenção do sinal fotoacústico.

4.1 Espectroscopia fotoacústica

Inicialmente foi obtido o espectro fotoacústico do soro fisiológico na região UV, verificando-se não haver absorção de UV pelo mesmo. Isto elimina a hipótese de haver interferência nas medidas de espectros realizados com a pele.

A seguir, obteve-se o espectro da curva de absorção do protetor solar isoladamente, conforme apresenta a figura 12. O espectro mostra que o protetor absorve muito bem na região de UVB, apresentando queda a partir de 360nm, região de UVA; este produto, portanto, apresenta uma proteção mais efetiva em relação ao UVB, responsável pela formação de eritema.

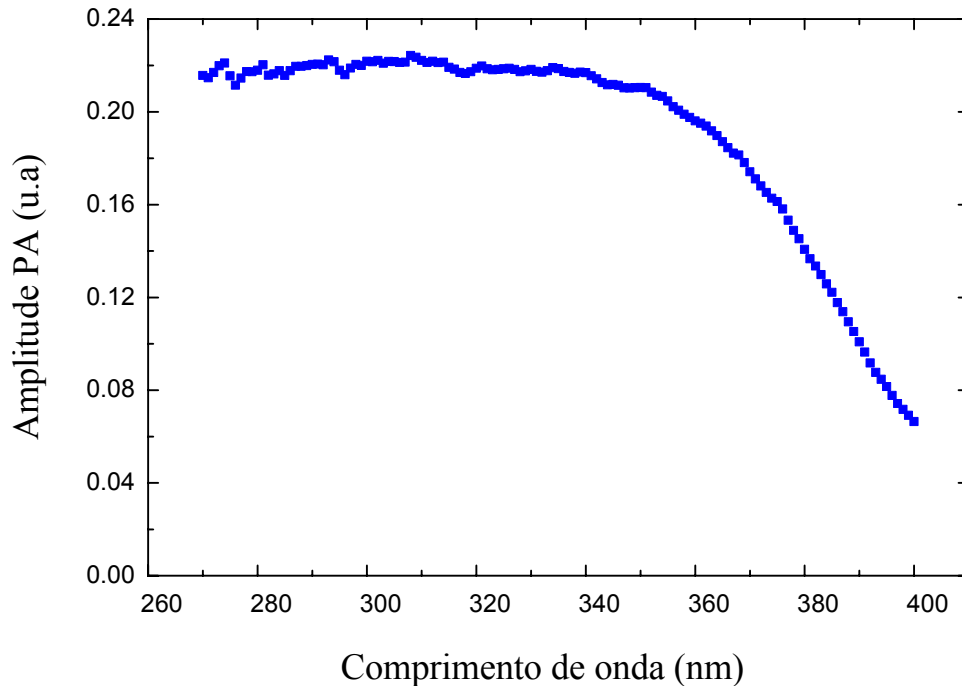


Figura 12. Espectro fotoacústico de absorção do protetor solar (frequência de modulação $f=19\text{Hz}$).

Segundo Springsteen et al (1999) e conforme metodologia adotada pelo Ministério da Saúde e reconhecida internacionalmente, o FPS indica o índice de proteção somente em relação UVB. Busca-se, hoje, uma metodologia que avalie a proteção efetiva também em relação à UVA. Okuno e Vilela (2005) observam que protetores de última geração já contêm substâncias que visam proteger a pele contra UVA. Esta proteção ocorre principalmente a partir de filtros físicos. No entanto, sendo estes compostos de substâncias opacas e de difícil solubilidade, não são cosmeticamente bem aceitos por deixarem uma tonalidade esbranquiçada na pele (KEDE; SABATOWICH, 2004). Observe-se que, ainda hoje, embora os protetores solares comercialmente disponíveis apresentem excelente proteção em relação à radiação UVB, o mesmo não ocorre para a radiação UVA, de modo que frequentemente o usuário fica mais exposto à radiação UVA (AUTIER et al, 1999).

Obteve-se também o espectro fotoacústico da epiderme isoladamente (figura 14).

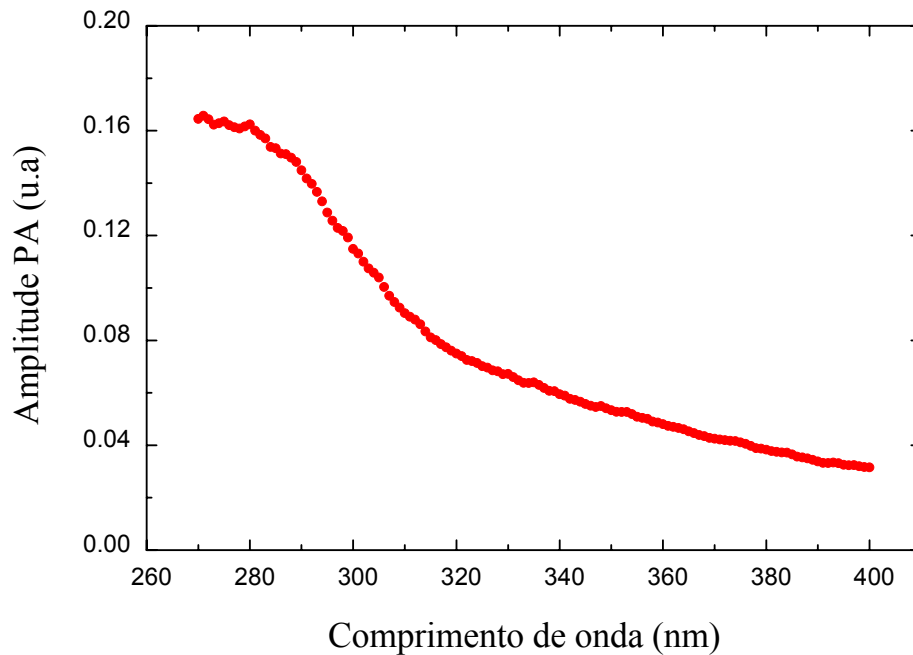


Figura 13. Espectro fotoacústico de absorção da epiderme (amostra de abdome, $f = 19\text{Hz}$).

A absorção da RUV pela pele varia nos diferentes comprimentos de onda e de acordo com o biótipo de pele. Radiações com comprimentos inferiores a 315nm são, em grande parte, absorvidas por proteínas e outros constituintes epidérmicos, principalmente pela melanina, reduzindo muito sua penetração em camadas mais profundas (OKUNO; VILELA, 2005). Como mostra a curva de absorção da epiderme (figura 13), a absorção da radiação tem um declínio, conforme aumenta o comprimento de onda, absorvendo pouco ou quase nada na região de UVA. Segundo Stry et al (1997), a radiação UVA, em contato com a pele, atinge camadas profundas, como a derme, sendo absorvido pelo DNA dos melanócitos, podendo originar células precursora do melanoma. Neves, Lupi e Talhari (2001) relatam outro efeito deletério do UVA que é o envelhecimento precoce, induzido por danos crônicos e cumulativos das fibras elásticas e colágeno dérmico.

A figura 14 apresenta o espectro fotoacústico de absorção do sistema pele+protetor, para diferentes intervalos de tempo após aplicação. Para isso, realizou-se a varredura espectral

de 270nm a 400nm para o sistema pele+protetor aplicado, repetindo-se a medida a cada 30 minutos durante três horas e meia, sempre para frequência de modulação de 19Hz. A figura a seguir mostra a sequência de medidas referente aos diversos intervalos de tempo após a aplicação.

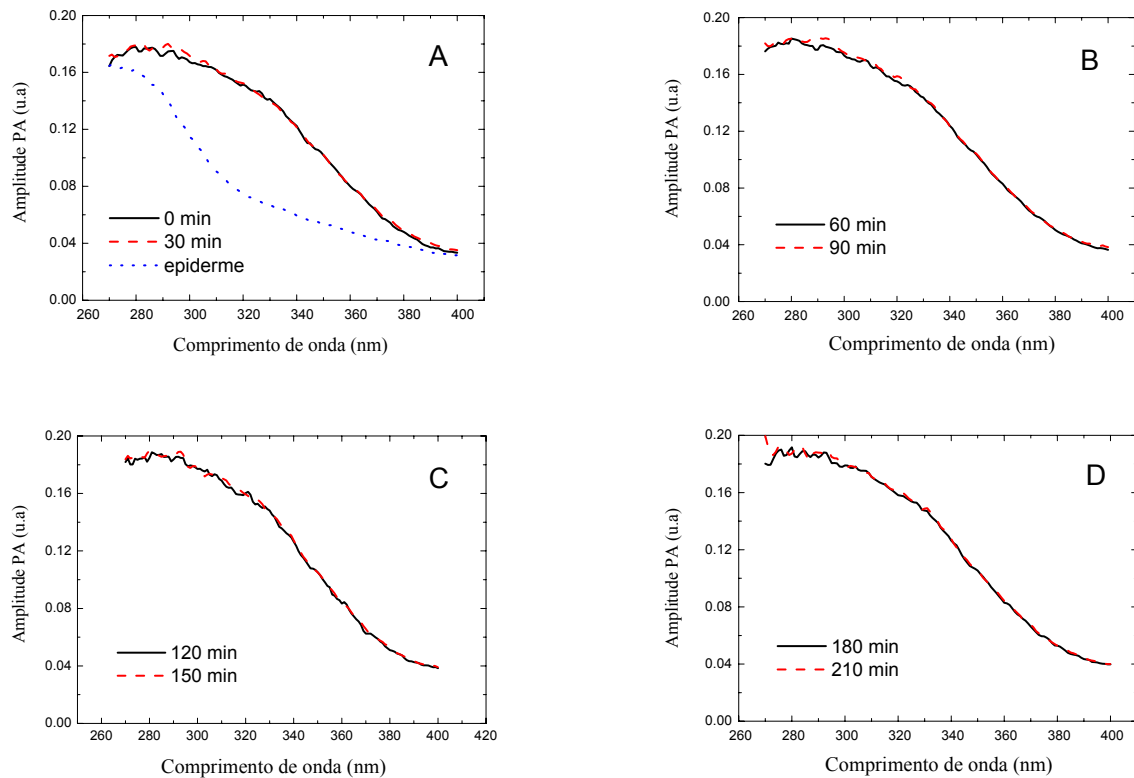


Figura 14. Espectro de absorção do sistema pele+protetor solar diferentes intervalos de tempo após a aplicação. A: 0 e 30 minutos; B: 60 e 90 minutos; C: 120 e 150 minutos; D: 180 e 210 minutos.

Em A, a curva pontilhada corresponde à figura 12, reproduzida para efeito de comparação.

Observa-se que não existe alteração significativa do espectro em função do tempo, indicando que o efeito do protetor solar permanece aproximadamente constante mesmo após três horas e meia de aplicação.

Após quatro horas de medidas, a amostra foi retirada da célula fotoacústica e limpa com papel absorvente, sendo recolocada na célula para realização de nova medida, resultando na curva representada na figura 15.

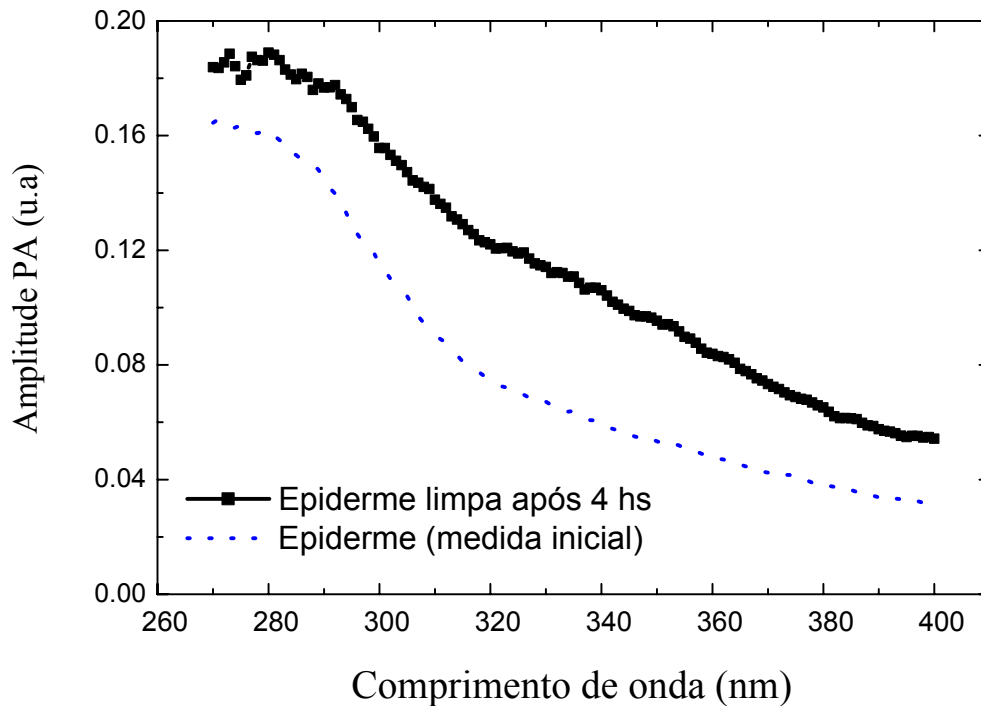


Figura 15. Espectro fotoacústico de absorção da epiderme limpa após a série de medidas da fig.14. A curva pontilhada corresponde à fig.13, reproduzida para efeito de comparação.

Verifica-se que, após efetuar a limpeza da amostra de pele, a curva fotoacústica de absorção aproxima-se da medida inicial (epiderme sem aplicação do protetor), porém com um sinal de amplitude superior. A diferença na amplitude pode ser explicada supondo-se que o produto aplicado permanecia na epiderme, sendo apenas parcialmente removido no processo de limpeza. É importante observar que as medidas fotoacústicas efetuadas na pele correspondem a uma profundidade da ordem de $30\mu\text{m}$ na epiderme (ver item 3.3.1). Deste modo, pode-se concluir que a camada superficial do protetor solar foi de fato removida na limpeza; registra-se, porém, presença significativa do protetor incorporado à epiderme, na região do estrato córneo (que corresponde aproximadamente à espessura da epiderme investigada pelas medidas efetuadas). Estudo recente, realizado com protetor solar *in vivo*, mostra resultado semelhante para medidas efetuadas após lavagem da pele (PEDROCHI et al, 2005).

Por outro lado, pode-se levantar a hipótese de que tenha havido também uma penetração do produto a profundidades superiores à camada córnea da epiderme, o que não foi investigado neste trabalho. Observa-se que esta possibilidade representaria um risco para o consumidor, na medida em que a penetração do protetor solar em camadas mais profundas levaria ao risco de absorção sistêmica do produto, com possíveis efeitos deletérios (NOHYNEK; SCHAEFER, 2001).

Para verificar a fotoestabilidade do protetor aplicado, avaliou-se a área sob a curva de absorção espectral do sistema pele+protetor. A figura 16 mostra a área calculada sob a curva de absorção, para os diferentes intervalos de tempo após aplicação do produto.

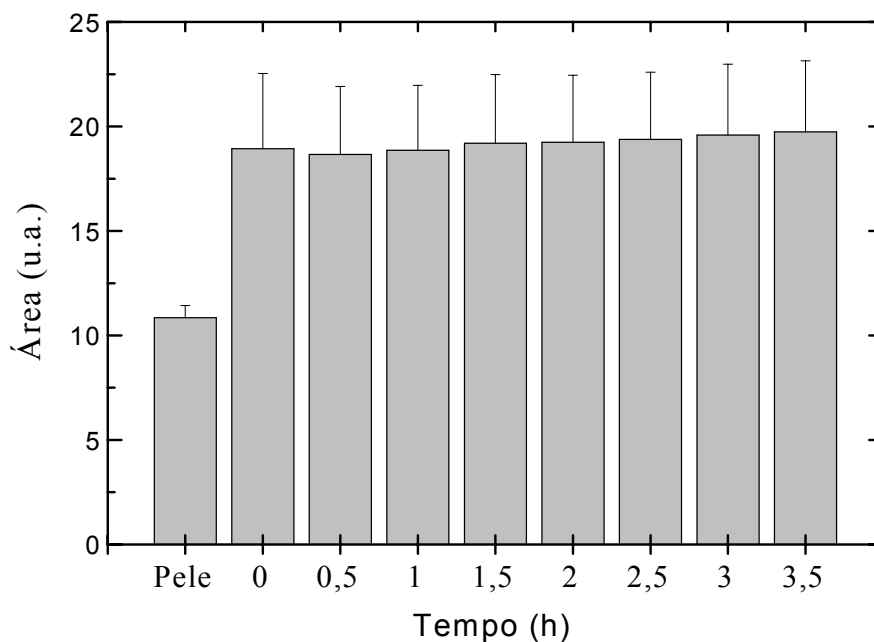


Figura 16. Área calculada sob a curva de absorção do sistema pele+protetor, para os diferentes intervalos de tempo após aplicação do produto (valor médio + desvio padrão). A coluna inicial (pele) refere-se à medida na epiderme antes da aplicação do protetor solar.

A primeira coluna do gráfico representa a área sob a curva de absorção da pele antes da aplicação do protetor. Verifica-se que, após a aplicação do protetor, a área sob a curva apresenta um aumento próximo a 80%, mostrando a ação do produto aplicado. Observa-se

também que a área sob a curva de absorção permanece essencialmente a mesma para os diferentes intervalos de tempo após aplicação do produto. Pode-se atribuir essa estabilidade no valor da área à fotoestabilidade do produto utilizado.

A fotoestabilidade também pode ser avaliada através do espectro *in situ*, calculado como a diferença entre a curva de absorção do sistema pele+protetor e a curva de absorção da epiderme isolada. O espectro *in situ* mostra a ação do protetor solar quando incorporado à pele e encontra-se representado na figura 17, para dois diferentes instantes após aplicação. Os resultados obtidos estão de acordo com aqueles apresentados por Anjos e colaboradores para produto semelhante (ANJOS et al, 2004).

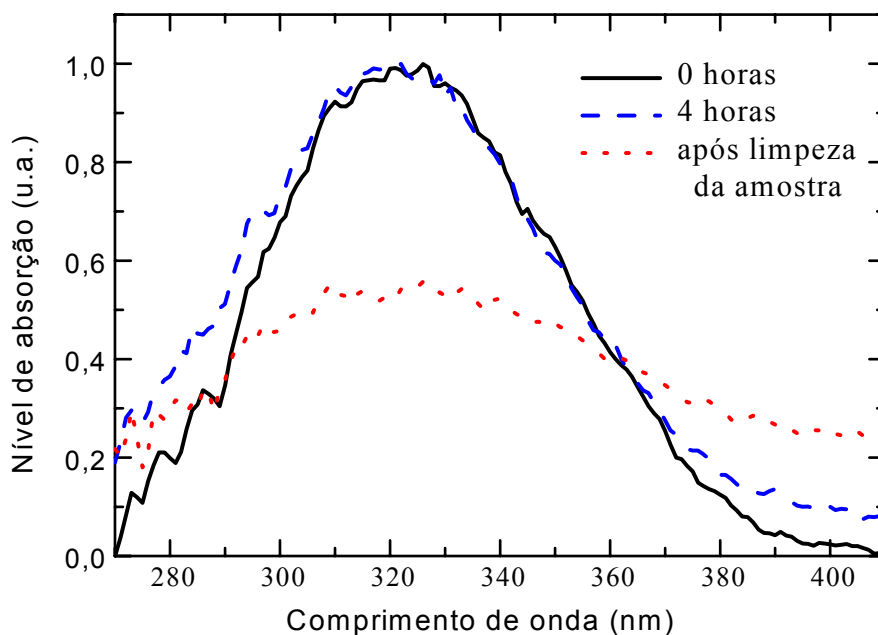


Figura 17. Espectro fotoacústico de absorção *in situ*

Pode-se observar através das curvas de absorção que a proteção oferecida pelo protetor após aplicado à pele é mais efetiva na região de UVB, apresentando uma queda na região de UVA, o que está de acordo com referências já mencionadas anteriormente. Além disso, o

espectro *in situ* muda pouco com o tempo de aplicação, como se pode perceber pela comparação das curvas para 0 horas e 4 horas (figura 17).

Para a região UVB, a figura 17 também mostra uma queda no nível de absorção após secagem da epiderme, o que é explicado pela retirada do protetor solar (processo de limpeza), como discutido anteriormente. No entanto, é possível notar um aumento no sinal para comprimentos de onda entre 370nm e 410nm (UVA-visível), aumento este que pode ser atribuído a alterações na amostra de pele. É importante notar que o espectro de absorção *in situ* foi calculado subtraindo-se, da curva para o sistema pele+protetor, a curva de absorção da epiderme obtida *antes da incidência de luz*. Assim, alterações na amostra capazes de modificar a curva de absorção da epiderme afetariam o espectro *in situ* calculado.

O aumento observado na região UVA do espectro de absorção (figura 17, curva pontilhada) não pode ser atribuído à síntese de melanina, já que esta é associada ao bronzeamento tardio – processo observado numa escala de dias, não horas.

Apresentamos a seguir as possíveis explicações para a mudança no espectro de absorção após a limpeza da pele.

A aplicação do protetor solar na pele gera uma camada superficial do produto, de modo que a medida efetuada corresponde ao sistema bicamada pele+protetor. Hahn et al (2001) reportam uma espessura de aproximadamente 20 μ m para a camada de protetor solar aplicada. Quando a limpeza da amostra é efetuada, a camada de protetor solar que ainda se encontrava na superfície é retirada (na verdade, durante a limpeza é possível que mesmo uma parte da camada córnea seja removida com o protetor solar). Assim, uma camada mais espessa de pele passa a gerar o sinal fotoacústico, produzindo alteração no espectro de absorção observado.

Esta explicação é sustentada por medidas fotoacústicas publicadas recentemente (ROMPE et al, 2005) que mostram um nível de absorção na região UVA maior para camadas mais profundas da epiderme do que para a camada córnea. Este resultado concorda com os dados conhecidos sobre penetração da radiação UVA e UVB na pele (ver Introdução).

Outro ponto a considerar diz respeito ao comprimento de difusão térmica. Sabe-se que o nível de hidratação de uma amostra pode alterar sua difusividade térmica. Assim, o comprimento de difusão térmica para uma amostra pode mudar com sua desidratação. Como a difusividade térmica da água é menor que a da pele (BARJA, 1996; PEDROCHI, 2005), a perda de água ocorrida no processo de limpeza faz com que o comprimento de difusão térmica aumente. Novamente, uma camada mais espessa de pele passa a gerar o sinal fotoacústico, explicando o aumento do nível de absorção na região UVA. Resultado semelhante foi obtido em trabalho anterior do grupo (ROMPE et al, 2005).

4.2 Sinal fotoacústico em função do tempo

Apresentamos a seguir as medidas efetuadas para o sinal fotoacústico utilizando fontes de luz extensa (lâmpada de tungstênio, simulador solar), sem emprego do monocromador. Buscou-se aqui uma nova forma de avaliar a fotoestabilidade do protetor solar em medidas realizadas em amostras de pele, utilizando a técnica fotoacústica.

4.2.1 Sinal fotoacústico em função do tempo utilizando lâmpada de tungstênio como fonte de luz

Conforme mencionado no capítulo 3 (Materiais e Métodos), monitorou-se a evolução temporal do sinal fotoacústico para diferentes cortes de cada amostra de pele. A amplitude do

sinal para cada medida foi normalizada pela medida inicial efetuada no mesmo corte, sem aplicação de protetor solar.

Durante todo o tempo, as amostras ficaram expostas à luz da lâmpada de tungstênio. Para obtenção do gráfico, foi realizado o cálculo da média das medidas da pele isolada e do sistema pele+protetor aplicado. A figura 18 mostra os resultados obtidos.

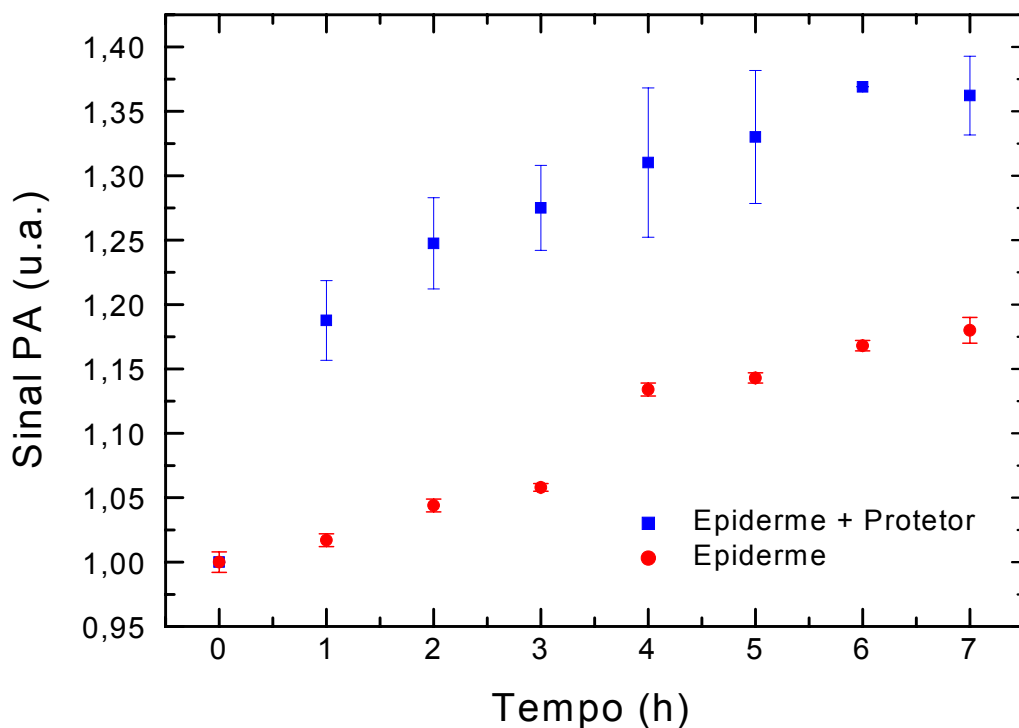


Figura 18. Evolução temporal do sinal fotoacústico para amostras de epiderme com e sem protetor solar aplicado (valor médio e desvio padrão).

Verifica-se que, apesar da lâmpada de tungstênio emitir pouca radiação UV, o nível do sinal fotoacústico aumenta com o tempo mesmo para as amostras que não receberam aplicação do protetor solar, mostrando alteração na pele após exposição à luz.

Observa-se que o nível de sinal fotoacústico para o sistema pele+protetor também aumenta com o tempo, mantendo amplitude relativa sempre superior à observada para os

cortes que não receberam aplicação do protetor solar. Este aumento na amplitude pode ser atribuído à progressiva desidratação da amostra.

Para avaliar a evolução temporal do ganho na amplitude (atribuída à aplicação do protetor solar), definiu-se o ganho relativo subtraindo o sinal da epiderme (sem protetor) do sinal do sistema pele+protetor. O resultado se encontra na figura 19.

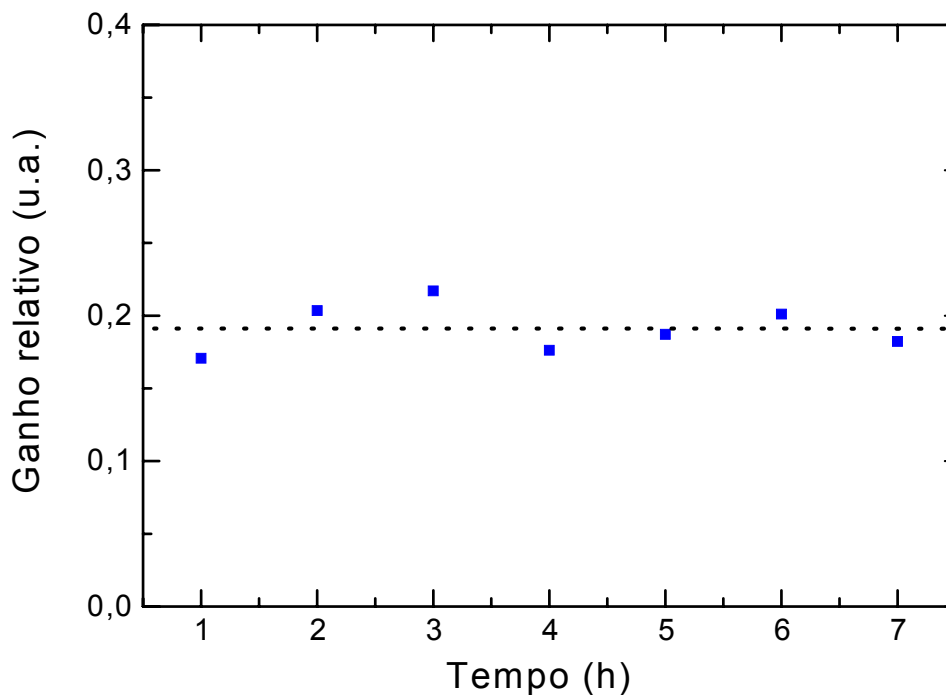


Figura 19. Ganho relativo na amplitude do sinal fotoacústico em função do tempo, atribuído à aplicação do protetor solar (valor médio e desvio padrão). A reta pontilhada representa o ajuste linear obtido para os dados experimentais.

Em seguida, foi feito o ajuste linear para os dados experimentais da figura 19 (mesma figura, reta pontilhada). Os parâmetros obtidos para a reta de ajuste ($y = A + Bx$, parâmetro de ajuste \pm erro) são:

$$A = (1,9 \pm 0,1) \cdot 10^{-1} \quad e \quad B = (0 \pm 3) \cdot 10^{-3}$$

Em trabalho anterior realizado no Laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos do IP&D/UNIVAP (ROMPE, 2004), a mesma montagem fotoacústica foi empregada na avaliação da penetração do antiinflamatório Diclofenaco dietilamônio aplicado à pele *in vivo*. As curvas de evolução temporal do sinal fotoacústico após aplicação do medicamento foram ajustadas através de uma exponencial decrescente, fornecendo um tempo típico de penetração em torno de 60 minutos para aplicação manual e de 20 minutos para aplicação por sonoforese.

Na figura 19, os dados experimentais não seguem um decaimento exponencial. O ajuste linear realizado mostra claramente a estabilidade do sinal, que pode ser atribuída à fotoestabilidade do produto para as condições experimentais utilizadas. É importante ressaltar que a fonte de luz empregada nestas medidas apresenta baixa emissão de radiação UV, conforme descrito anteriormente.

4.3 Resultado das medidas do sinal fotoacústico em função do tempo utilizando o simulador solar

Foram realizadas novas medidas utilizando como fonte de luz o simulador solar, que apresenta emissão de UVA e UVB semelhante à da luz solar. As medidas foram realizadas de forma análoga às aquelas descritas no item anterior.

Os resultados obtidos são apresentados na figura 20, que também mostra os ajustes lineares obtidos para as seqüências de medidas com e sem protetor solar aplicado. Os parâmetros obtidos para a reta de ajuste ($y = A + Bx$, parâmetro de ajuste \pm erro) foram:

$$\text{Epiderme (sem protetor aplicado): } A = (6,01 \pm 0,06) \cdot 10^{-2} \text{ e } B = (3 \pm 1) \cdot 10^{-4}$$

$$\text{Sistema pele+protetor solar: } A = (12,55 \pm 0,07) \cdot 10^{-2} \text{ e } B = (0 \pm 1) \cdot 10^{-4}$$

Novamente, é possível observar a estabilidade no sinal fotoacústico do sistema pele+protetor.

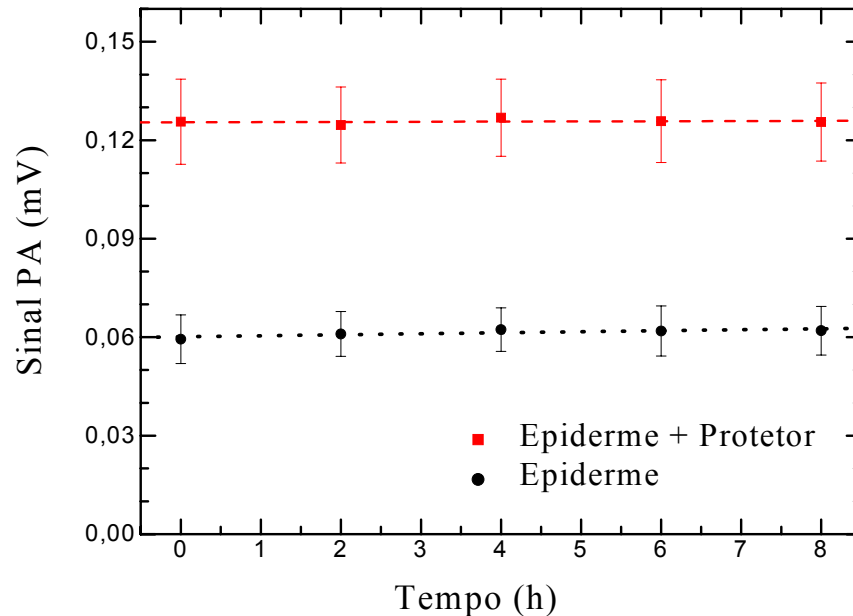


Figura 20. Evolução temporal do sinal fotoacústico (valor médio e erro padrão) para amostras de epiderme com e sem protetor solar aplicado utilizando o simulador solar como fonte de luz.

Deste modo, as medidas efetuadas (espectroscopia e medidas em função do tempo para duas diferentes fontes de luz) indicam que a contribuição do protetor solar ao sinal fotoacústico da pele se mantém essencialmente constante no intervalo de tempo estudado, para as diferentes condições experimentais utilizadas. No entanto, na interpretação dos dados apresentados, é necessário considerar os aspectos discutidos a seguir.

A fotoestabilidade de um protetor é afetada por diversos fatores: uso incorreto por parte do consumidor (aplicando quantidades inferiores ao recomendado), vento, umidade do ar, transpiração, contato com água e atrito. Nas medidas efetuadas no presente trabalho, pode-se afirmar que as amostras não sofreram influência dos fatores ambientais (vento e umidade), uma vez que as amostras de pele foram acondicionadas em célula fotoacústica fechada, com

as medidas sendo realizadas *in vitro*. Pelo mesmo motivo, elimina-se a possibilidade de influência da transpiração.

A amostra também foi preservada do contato com a água, evitando-se a retirada do produto por ação de atritos. Este fator é particularmente importante: embora a maioria dos protetores comercialmente disponíveis traga no rótulo a informação de “produto resistente à água”, autores relatam que muitos dos produtos perdem quase totalmente o potencial de proteção após 20 minutos de imersão (MONTERO; HERVELLA, 2001, NOHYNEK; SCHAEFER, 2001, KEDE; SABATOWICH, 2004).

Quanto à aplicação desigual ou incorreta, este fator pode ser descartado, uma vez que a quantidade de produto aplicado foi rigorosamente controlada para todas as amostras.

Finalmente, para enfatizar a diferença entre as medidas *in vitro* e *in vivo*, podemos citar o trabalho de Bernengo e colaboradores sobre penetração de corantes (BERNENGO et al, 1998). Comparando os intervalos de tempo típicos de decaimento do sinal fotoacústico para medidas *in vivo* e *in vitro*, estes autores mostram que a penetração do produto aplicado à pele é cerca de dez vezes mais rápida para as medidas *in vivo* do que para as medidas em amostra de pele extraída. Esta diferença pode ser atribuída a fatores como a microcirculação, nas medidas *in vivo*.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este trabalho apresenta diferentes metodologias para a análise da ação de protetores solares aplicados à pele, utilizando a técnica fotoacústica.

As medidas de espectroscopia fotoacústica mostram que a aplicação do produto à pele gera um aumento de aproximadamente 80% na área sob a curva de absorção.

A técnica fotoacústica permitiu a obtenção do espectro de absorção do protetor solar *in situ*. Verificou-se que o produto avaliado apresenta absorção mais efetiva na região do UVB, responsável pela formação do eritema, ocorrendo queda acentuada no nível de absorção do produto na região do UVA. Isto pode ser associado ao princípio de ação dos diferentes componentes ativos do produto avaliado: enquanto os filtros químicos são mais efetivos na absorção da radiação UVB, os filtros físicos atuam refletindo as radiações UVA e UVB.

Pode-se concluir também que, quatro horas após a aplicação do produto, este pode ser removido parcialmente por ação mecânica, enquanto parte do protetor solar permanece na camada córnea mesmo após a limpeza. O fato de que uma parcela do produto permanece na superfície, podendo ser removida por ação mecânica, reforça a recomendação de reaplicação do protetor após atividades como mergulho, uso de toalha ou transpiração intensa.

Nas condições em que foram feitas as medidas, não foi possível observar queda significativa no efeito do protetor solar aplicado às amostras de pele. No entanto, deve-se ressaltar que neste estudo as amostras foram mantidas em célula fotoacústica fechada, ficando, assim, isoladas de diversos fatores que interferem na fotoestabilidade do produto. Para que estes fatores possam ser considerados, estudos posteriores deverão ser realizados *in vivo*.

Além desta perspectiva, outros estudos com protetores solares e cremes de aplicação tópica poderão ser realizados através da técnica fotoacústica, tais como:

- a) avaliação da penetração do protetor solar em camadas mais profundas da pele;
- b) determinação dos fatores de proteção (FPS) de diferentes protetores solares;
- c) avaliação do efeito de um determinado produto aplicado a diferentes tipos de pele.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABARCA, J.F.; CASICCIA, C.C. Skin câncer and ultraviolet-B radiation under the Antarctic ozone hole: southern Chile, 1987-2000. **Photodermatol Photoimmunol Photomed.** v.18, p 294-302, 2002.
- AMBLARD, P., BÉANI, J.C.. Est-il dangereux d'utiliser des topiques photoprotection? **Ann Dermatol Veneréol.** v.121, p 875-879, 1994.
- ANJOS, F H et al. Sunscreen effects in skin analyzed by photoacoustic spectroscopy. **Optical Diagnostics and sensing IV**, v.5325, p. 143-149, 2004.
- AROUCA, L. V. **Importância da Fototerapia.** Ação Nacional e Permanente de Combate ao Câncer da Pele. Disciplina de Telemedicina da FMUSP, 2003. Disponível em <<http://www.saudeparavoce.com.br>> Acesso em 21 out.2003.
- ATVARS, T.D.Z.; MARTELI, C. **Espectroscopia eletrônica de absorção**, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2002. Disponível em <<http://www.chemkeys.com>>. Acesso em 11 jul. 2005.
- AUTIER, F. et al. Sunscreen. Use and duration of Sun Exposure: a double-blind, randomized trial. *Journal of the National Câncer Institute.* v.91, n.15, 1999.
- BARJA, P. R. **Estudo da Indução Fotossintética Através da Técnica Fotoacústica.: Efeitos de Saturação e Fotoinibição.** 1996. Dissertação (Mestrado)-IFGW/Unicamp, 1996.
- BEHELLI, L. M.; CURBAN, G. V. **Compendio de Dermatologia.** 3ed. São Paulo: Atheneu, 1967, p 804.
- BERNENGO, J. C. et al. Photoacoustics as a tool for cutaneous permeation studies. **High Temperatures-High Pressures.** v.30, p 619-62, 1998.
- BISSCHOP, G.; BISSCHOP, E.; COMMANDRÉ, F. **Eletrofisioterapia,** São Paulo: Ed Santos, 2001, p. 65-69.
- CORREA, M.P. **Índice de Ultravioleta: Avaliação e Aplicação.**2003. Tese (Doutorado) - Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas de São Paulo, USP, 2003.
- COUTEAU et al. Stripping method to quantify absorption of two sunscreens in human. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 222 , p.153-157, 2001.
- CPTEC. Disponível em <<http://satellite.cptec.inpe.br>> Acesso em 15 abr.2005.
- CRUZ, V.M.F.R.; ACOSTA-AVALOS, D.; BARJA, P.R. Filtros solares com diferentes fatores: uma análise comparativa. In: ENCONTRO NACIONAL DE FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA, 28., Santos, SP.,2005.**Anais...** p 59-60.
- DEBUYS,H.V. et al. Modern approaches to photoprotection. **Dermatol Clin.** v..18, n.4, p 577-599, 2000.

DELGADO;VASALLO, O.; MARÍN, E. The application of the photoacoustic technique to the measurement of the thermal effusivity of liquids. **J. Phys. D. Appl. Phys.** v.32, p. 593-597, 1999.

DIFFEY, B.L.; OAKLEY. The onset of ultravioleta erythema. **J Dermatol.** v.116, p 183-187, 1987.

FDA, Sunscreen drug products for over-the counter use. Department of Health, Education and Welfare, Fed Register 43:38206-38269, 1978. Disponível em <<http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fr990521.html>> Acesso em 22/09/2004

FITZPATRICK, T.B., Definição colorimétrica de categorias de color de piel en el espacio. CIE, 1976.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional**, 3ed revisada e ampliada, São Paulo: Manole, 2004, p 223-227.

HANH, B.D et al. Penetration of through human stratum corneum as studied by Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. **Journal of controlled release.** v.70, p.393-398, 2001.

HOBBIE, R.K. **Intermediate Physics for Medicine and Biology.** New York: AIP Press, 1997.cap.13.

INPE. Disponível em <<http://www.inpe.br>>. Acesso em 08 abr. 2005.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 9ed., Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1999, cap 18.

KEDE, M.P.V; SABATOWICH. **Dermatologia Estética**, São Paulo: Ed Atheneu, 2004.

KIM, H.J.; Photoprotection in adolescents. **Adolesc Med.** v.12(2). p181-193, 2001.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. Eletroterapia de Clayton, 10ed, , São Paulo: Ed Manole, 1998, p. 211-217.

L'ORÉAL, 2005. Disponível em <http://www.skin-science.com/_int/_en/index.aspx,> Acesso em 01 ago.2005.

LOW, J.; REED, A; RIBEIRO, L.B. **Eletroterapia Explicada, princípios e prática**, 3ed, São Paulo, Manole, 2001, p 411-449.

MAIA, M. Roupas e Acessórios Como Protetor Solar, in site da Sociedade Brasileira de Dermatologia, Regional São Paulo. Disponível em <<http://www.sbd-sp.org.br/publico/artigos/art1.asp>> Acesso em 14/02/2005.

MESQUITA, R.C. **Caracterização fotoacústica de plantas crescidas sob diferentes condições de luminosidade.** Tese (Mestrado – Unicamp), Campinas, 2005, cap 2.

MILIDIÚ, I. Anatomia, histologia e embriologia da pele. **Hosp. Sider. Nac.** Volta Redonda, 1979, p 22-26.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Resolução-RDC nº 237, de 22 de Agosto de 2002. Regulamento Técnico sobre Protetores Solares em Cosméticos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 22 set.2004.

MONTERO, P.; HEVELLA, B. O sol e o ser humano. Meteogalicia, 2001. Disponível em <<http://www.meteogalicia.es/galego/uvmedio>>. Acesso em 04 jul.2005.

NEVES, E.G.; LUPIO; TALHARI, S. **Câncer de Pele**, Rio de Janeiro: Ed Medsi, 2001, cp 53.

NOHYNEK, G.J.; SCHAEFER,H. Benefit and risk of organic ultraviolet filters. **Regul Toxicol Pharmacol.** v.33, p 285-299, 2001.

OKUNO, E.; VILELA, M.A.C. Radiação ultravioleta: Características e efeitos. São Paulo, Ed Livraria da Física, 2005.

PEDROCHI, F. et al. Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration rate of three different sunscreens into human skin in vivo. **Journal de Physique IV**, n.125, p. 757-759, 2005.

PROTA, G. **Melanins and Melanogenesis**, San Diego: Academic Press, 1992, cap 10.

QUIRONGA, M; GUILLOT, C. **Cosmética Dermatológica Práctica**. 5ed, Buenos Aires: El Ateneo. 1986.

ROBINSON, J.K.;RIGEL, D.; AMONETTE, R.A., Summertime sun protection used by adult for their children. **Acad Dermatol.** v.42, n.5, p.746-753, 2000.

ROMPE, P.C.B. **Estudo fotoacústico das propriedades de penetração do diclofenaco dietilamônio de uso tópico aplicado na pele humana *in vivo***, 2004. 48f, Dissertação (Mestrado – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento) Universidade do Vale do Paraíba, 2004.

ROMPE, P.C.B. et al. Characterization of human skin through photoacoustic spectroscopy. **Journal de Physique IV**, v.125, p. 785-787, 2005

ROSENCWAIG, A.; GERSHO, A. Theory of the photoacoustic effect with solids. **J. Appl. Phys**, v.47, p 64-69, 1976.

ROSENCWAIG, A. **Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy**. New York: John Wiley & Sons, 1980; p. 219-231.

SAMPAIO, S.A.; RIVITTI, E.A. **Dermatologia**, 2 ed. São Paulo: Ed Artes Médicas, 2001, p 3-13 ,629 - 642.

SANTOS, I.B.; SANT'ANNA, D; CARVALHO, J. **Fotoprotetores**, An Bras Dermatol.v.73(supl.2), p.5-9 , 1998.

SOLAR LIGHT.CO. Disponível em< <http://www.solar.com/>>. Acesso em 08 jul.2005.

SPDV, Manual Sol e Pele da Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia, cp 8. Disponível em< [http:// www.dermo.pt/categorias](http://www.dermo.pt/categorias)> Acesso em 04 jul. 2005

SPRINGSTEEN, A et al; In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **Analytica Chimica Acta**. v. 380, p 155-164, 1999.

STARY, A et al. Deleterious effects of ultraviolet A radiation in human cells, **Mutation Research**. Elsevier Science. v.383, p. 1-8, 1997.

STERN, R.S.Sunscreens for cancer prevention. **Arch Dermatol**. v.131, p220-221, 1995.

STOKES, R.P., DIFFEY B.L. The wather resistance of sunscreen and daycare products. **Br J Dermatol**. v.140, p. 259-263, 1999.

TCHORNOBAY, A. M.. In: BADIN, A.Z.D. et al, **Rejuvenescimento Facial a Laser**, Rio de Janeiro: Revinter, 1998. cap 4, p 86 - 113.

WEN,C.L. **Conheça a sua pele.** Disponível em <http://www.saudeparavoce.com.br/prevenção> Acesso em 10 nov.2003.

WOLF, R et al. Sunscreens. **Clinics in Dermatology**. v.19, 2001. p. 452-459.

Anexo A***Autorização da Instituição***

São José dos Campos, de de 2004.

Dr. Alúcio de Oliveira Fernandes

Diretor clínico do Hospital e Maternidade POLICLIN

Re: Solicitação de amostras de pele para trabalho científico

Prezado Doutor,

Vimos por meio desta solicitar a cessão de amostras de pele para realização de trabalho científico envolvendo colaboração entre a UNIVAP e o Hospital e Maternidade POLICLIN. Trata-se da caracterização da pele humana através de espectroscopia fotoacústica e análise de protetores solares aplicados à pele, assunto este que é o tema de mestrado em Engenharia Biomédica de Vanda da Cruz.

Estima-se a necessidade de realização de aproximadamente seis sessões de medidas em amostras de pele com área em torno de 1 cm²; em cada sessão, pretende-se realizar até 10 medidas. A trabalho de mestrado da aluna citada tem conclusão prevista inicialmente para dezembro de 2004. Será feita menção à colaboração com o Hospital e Maternidade POLICLIN em quaisquer publicações acadêmicas oriundas do trabalho.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Atenciosamente.

Prof. Dr. Paulo Roxo Barja

E-mail: barja@univap.br

Telefone: (12) 3947-1108 (Lab)

Anexo B***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO***

Eu, _____, declaro ter sido informado (a) do projeto de pesquisa intitulado **“Efeito de filtros solares aplicados à pele: uma análise fotoacústica”**, inclusive de sua justificativa, objetivos, metodologia e procedimentos de coleta de dados, sendo a pesquisa realizada com o intuito de caracterizar, através da espectroscopia fotoacústica, amostras de pele humana e protetores solares disponíveis comercialmente com diferentes fatores de proteção e avaliar a duração do efeito protetor; estando assim plenamente esclarecido (a) das implicações de minha participação na pesquisa. Minha assinatura neste documento é de livre e espontânea vontade, estando ciente de que os resultados da pesquisa poderão ser divulgados e utilizados em estudos e publicações futuras. Ficam-me assegurados os seguintes direitos: liberdade para interromper a pesquisa em qualquer fase, no momento em que julgar necessário; sigilo da minha identidade e o reconhecimento dos resultados obtidos quando por mim solicitado.

São José dos Campos, ____ de _____ de 200_.

Assinatura

Anexo C

Autorização da Instituição

Prof. Dr. Edson Corrêa da Silva

Chefe do Laboratório de Fototérmica e Ressonância Magnética do IFGW/UNICAMP

Re: Solicitação de uso do laboratório

Prezado Doutor,

Vimos solicitar autorização para desenvolver medidas de espectroscopia fotoacústica no Laboratório de Fototérmica e Ressonância Magnética do IFGW/Unicamp. As medidas serão realizadas em amostras de pele humana e protetores solares disponíveis comercialmente com diferentes fatores de proteção. A duração do efeito protetor será avaliada através de medidas realizadas diferentes períodos após aplicação na pele. As medidas fazem parte da pesquisa realizada por Vanda da Cruz e constarão de sua dissertação de mestrado (PPG em Engenharia Biomédica da UNIVAP). O título do projeto é **“Efeito de filtros solares aplicados à pele: uma análise fotoacústica”**.

Após a defesa e aprovação do trabalho de graduação enviaremos uma cópia a essa instituição.

Antecipadamente agradecidos,

Mestranda: Vanda Maria Fogaça Rosa da Cruz

Orientador: Prof. Dr Paulo Roxo Barja

Anexo D
Comitê de Ética em Pesquisa da UniVap

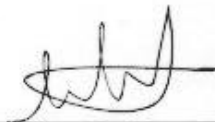
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º L027/2004/CEP, sobre "*Efeito de filtros solares aplicados à pele: uma análise fotoacústica*", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Paulo Roxo Barja, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, conforme Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

São José dos Campos, 17 de setembro de 2004



PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Univap