



# O USO DE ANTIOXIDANTES COMO PROMOTORES DA FOTOPROTEÇÃO: UMA ABORDAGEM CIENTÍFICA

AMAZARRAY, Carmen R.,<sup>1</sup> GUTERRES, Sílvia S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Farmácia da UFRGS; <sup>2</sup>Professora da Disciplina de Farmacotécnica e Cosmetologia, Faculdade de Farmácia – UFRGS – Porto Alegre – RS

**RESUMO:** A pele, por constituir uma interface com o meio ambiente e devido a sua função barreira, é considerada um órgão alvo para os efeitos nocivos da luz solar. A ação da radiação ultravioleta sobre a superfície cutânea leva à geração excessiva de radicais livres, os quais estão relacionados a diversas patologias da pele (queimaduras, fotoimunossupressão e fotocarcinogênese) e ao próprio processo de envelhecimento. Tendo em vista os casos crescentes de câncer de pele e outros efeitos adversos da exposição solar crônica, conclui-se que a terapia fotoprotetora atual é insuficiente. De forma a aperfeiçoar a fotoproteção, observa-se, nos últimos anos, um crescente interesse em substâncias com propriedades antioxidantes, capazes de sequestrar radicais livres, reduzindo os danos oxidativos produzidos na pele e até mesmo com a habilidade de inibir sinais de transdução induzidos pela radiação ultravioleta, que conduzem a diversos processos patológicos e degenerativos. A proposta desta revisão é analisar, com base científica, não só os benefícios, mas também os aspectos negativos de vários antioxidantes de uso tópico passíveis de serem incorporados em formulações fotoprotetoras.

**UNITERMOS:** antioxidantes, estresse oxidativo, fotoproteção, radicais livres

**ABSTRACT:** *THE USE OF ANTIOXIDANTS AS FOTOPROTECTOR ENHANCER: A SCIENTIFIC APPROACH.* The skin, consisting of an interface with the environment and due to its barrier function, is considered a target organ for the noxious effects of the solar light. The action of the ultraviolet radiation on the cutaneous surface leads to an excessive generation of free radicals that are related to several pathologies of the skin (sunburns, photoimmunossuppression and photocarcinogenesis) and to the aging process. Due to increasing numbers in cases of skin cancer and other adverse effects of the chronic solar exhibition, we may conclude that actual photoprotection therapy is insufficient. In order to improve the photoprotection, it is noticed, in recent years, an increasing interest in substances with antioxidant properties, capable to scavenge free radicals, thus reducing the oxidative damages produced in the skin and yet with the ability to inhibit transduction signs, induced by the ultraviolet radiation, that lead to several pathological and degenerative processes. The proposal of this revision is to analyze, with scientific base, not only the benefits, but also the negative aspects of several antioxidants of topical use susceptible to be incorporated in sunscreens formulations.

**KEYWORDS:** antioxidants, free radicals, oxidative stress, photoprotection

## INTRODUÇÃO

A pele é um órgão constituído por diversas camadas, complexo em estrutura e função, que compõe a superfície externa e contínua do corpo. Apresenta propriedades estruturais e bioquímicas que permitem a formação de uma interface entre o organismo e o meio ambiente, protegendo-o contra as agressões químicas, físicas e microbiológicas (1). Devido a essa função, a pele torna-se o alvo principal dos danos causados pela radiação ultravioleta presente na luz solar (2). Os raios UVA e UVB, ao atingirem a pele, contribuem para degradação de

componentes intracelulares (lipídeos, proteínas e DNA) e extracelulares (como colágeno e elastina) (3). Por essa razão, a exposição excessiva ao sol traz conseqüências prejudiciais à saúde, como o câncer de pele e a piora de doenças de pele já existentes, fotodermatoses, imunossupressão e envelhecimento precoce (4).

A resposta inflamatória aguda e os processos degenerativos crônicos, relacionados com a exposição à luz solar, são resultantes da ação dos radicais livres (RL) e das espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas pela radiação UV (5). Radi-

cais livres são moléculas que apresentam um elétron desemparelhado na camada de valência, o que lhes confere grande instabilidade eletrônica. Já as espécies reativas de oxigênio originam-se da redução do oxigênio na epiderme, porém, não apresentam elétrons desemparelhados na sua última camada. Essas estruturas intermediárias são altamente reativas e geradas continuamente pelo metabolismo normal do organismo (1). Por isso, existe um potente sistema enzimático e não-enzimático de defesa antioxidante endógeno capaz de seqüestrar e neutralizar esses radicais formados e, assim, equilibrar o estado redox celular. Se, no entanto, ocorre um aumento exagerado dessas moléculas pela exposição ao sol, o controle antioxidante natural torna-se insuficiente, resultando em estresse oxidativo (6). Nessa situação, há uma elevação na taxa de peroxidação das membranas lipídicas, danificando-as e levando ao desenvolvimento de lesões celulares. Adicionalmente, observa-se perda da função de proteínas, bem como alterações nas bases do DNA que podem levar a mutações. Os radicais livres e ERO ainda são mediadores intracelulares envolvidos na transdução de sinais responsáveis pela expressão de genes específicos relacionados com processos patológicos como a inflamação, o fotoenvelhecimento e a fotocarcinogênese da pele (4).

Os antioxidantes são substâncias com a capacidade de decompor peróxidos ou desativar íons metálicos, reduzindo a taxa de iniciação da peroxidação lipídica. Também atuam interrompendo a propagação da reação em cadeia da lipoperoxidação por capturarem um dos radicais da reação, fornecendo produtos incapazes de continuar a cadeia, ou que continuam, mas com baixa eficiência (1).

A extensão dos eventos biológicos causados pela radiação solar na pele é determinada pela dose e duração da exposição, área da pele exposta e pela predisposição genética do indivíduo (1). Nesse sentido, a adoção de medidas que visam a fotoproteção, principalmente, o uso de filtros solares e exposição ao sol apenas nos horários recomendados, tem sido enfatizada nos últimos anos. Entretanto, muitos estudos já demonstraram que o uso de filtros solares é realizado de forma inadequada, já que, dificilmente, a quantidade aplicada é a ideal e a reaplicação é muito infreqüente. Além disso, a falsa sensação de segurança que o uso de um filtro solar promove leva as pessoas a se exporem de forma mais perigosa ao sol (6).

Devido a sua capacidade de impedir o estresse oxidativo, antioxidantes tópicos associados a filtros solares representam uma nova estratégia que vem sendo adotada a fim de aperfeiçoar a fotoproteção (7). Para tanto, os mesmos devem preencher determinados requisitos: ser capaz de

permeiar o estrato córneo e atuar nas camadas mais internas da pele (já que a radiação consegue penetrar profundamente), ser isento de toxicidade local e sistêmica, ter características físico-químicas que permitam sua incorporação em formulações tópicas e manter-se estável no produto final (8).

Tendo em vista todos estes parâmetros, antioxidantes de diversas origens estão sendo pesquisados atualmente. Considerando o exposto, é objetivo deste trabalho fazer uma revisão bibliográfica sobre os antioxidantes com finalidade de serem incorporados em formulações fotoprotetoras, discutindo suas vantagens e desvantagens com base em evidências científicas estabelecidas.

### **Principais antioxidantes usados como promotores da fotoproteção**

#### **Vitamina E**

A vitamina E é importante na proteção, tanto das estruturas lipídicas como das proteínas do estrato córneo, contra a oxidação induzida pela poluição e luz solar (6). Consiste em oito formas moleculares, sendo o isômero  $\alpha$ -tocoferol o mais proeminente na natureza e o mais eficaz na prevenção dos danos causados pela radiação UV (30). A aplicação tópica de  $\alpha$ -tocoferol provou ser capaz de proteger a pele de coelho contra a formação de eritema induzido pela radiação UVB. Em pele de camundongo foram observadas a inibição da lipoperoxidação, fotoenvelhecimento e imunossupressão, bem como, a formação de dímeros de timina mutagênicos no gene supressor tumoral *p53*, também resultantes da exposição à radiação UV (6). Pesquisas utilizando cultura de fibroblastos e queratinócitos humanos comprovaram proteção significativa do  $\alpha$ -tocoferol contra a citotoxicidade induzida pelos raios UVB (10).

A presença de dois anéis aromáticos na estrutura do  $\alpha$ -tocoferol confere-lhe a capacidade de absorver os raios UVB (31). Além disso, é capaz de seqüestrar o radical peroxil e neutralizar o oxigênio singlete (6). Portanto, a vitamina E fornece fotoproteção à pele pela combinação de propriedades absorptivas da radiação e propriedades antioxidantes (32).

O  $\alpha$ -tocoferol é praticamente insolúvel em água e facilmente inativado pelo oxigênio atmosférico. A esterificação do grupo hidroxila no anel cromanol ajuda a estabilizar o  $\alpha$ -tocoferol em formulações tópicas. Porém, já que esse grupo é essencial para a atividade antioxidante, ésteres, como acetato e succinato, devem primeiro ser hidrolisados para, então, apresentarem atividade biológica (6). Além disso, como a vitamina C protege a vitamina E da oxidação, a combinação de ambas também demonstrou estabilizar a formulação e aumentar a atividade fotoprotetora em pele de porco (33).

Estudos demonstraram que altas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol aceleram a auto-oxidação lipídica *in vitro*. É possível que o  $\alpha$ -tocoferol absorva a radiação UV gerando o radical tocoferoxil. Por este mecanismo, antioxidantes como ascorbato, tióis e ubiquinóis seriam usados para regenerar o radical formado, ocorrendo perda das defesas antioxidantes endógenas. No entanto, ainda não há dados clínicos que suportem essa hipótese de efeito pró-oxidante do tocoferol (4).

### Vitamina C

A vitamina C ou ácido ascórbico é a vitamina hidrossolúvel mais abundante na natureza e está presente principalmente em frutas cítricas e vegetais. Nas células de mamíferos, representa a primeira linha de defesa contra espécies reativas de oxigênio nos compartimentos hidrofílicos (10). Nessas condições, é um composto fortemente redutor, capaz de doar um elétron, formando o radical ascorbato mais estável que os radicais livres (6). É essencial para a biossíntese de colágeno e para reciclar co-antioxidantes fisiológicos (27). O ácido ascórbico também é capaz de inibir a tirosinase, reduzindo a síntese de pigmentos, e estimular a produção de esfingolipídeos da epiderme (6).

A vitamina C é um antioxidante versátil, capaz de interagir com os radicais livres superóxido e hidroxila, impedindo a propagação de reações em cadeia de radicais livres (28). A aplicação tópica de ácido ascórbico mostrou proteger a pele de porco contra radiação UVA e UVB por diminuir o grau de eritema e a formação de queimaduras. O acúmulo intracelular de ácido ascórbico resultou em proteção significativa de células epiteliais humanas contra a morte induzida pela radiação UVB (6). Além disso, é capaz de modular o fator de transcrição AP-1, responsável pela regulação de genes importantes na resposta nociva da radiação UV (10). No entanto, nas formulações tópicas, devido a sua instabilidade química, o ácido ascórbico vem sendo substituído por derivados, como o palmitato de ascorbila (éster de ácido graxo com caráter lipofílico) e ascorbilfosfato de magnésio (derivado de ácido orgânico com caráter hidrofílico) (28), que são convertidos à forma ácida nas células, mantendo seus efeitos biológicos, porém, conservando a estabilidade físico-química (6).

Contrariando os efeitos benéficos do ácido ascórbico, estudos *in vitro* demonstraram que o mesmo pode atuar como um pró-oxidante nas células. Dessa forma, age decompondo lipídeos a endotoxinas, formando eletrófilos que reagem com o DNA e reduzindo  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , o que aumenta a taxa da reação de Fenton e leva a uma maior peroxidação lipídica e a efeitos citotóxicos e mutagênicos (27).

Logo, antes de incorporar o ácido ascórbico em fotoprotetores, deve-se estabelecer que esse mesmo comportamento não ocorre *in vivo* (6).

### Vitamina D<sub>3</sub>

Existem estudos demonstrando a influência da vitamina D na diminuição do dano causado pela radiação UV aos queratinócitos. Esse fato se dá, provavelmente, por um mecanismo mediado pela metalotioneína, uma proteína intracelular, cuja expressão é induzida por muitos metais pesados, interleucina-1 e interferon- $\alpha$ . O exato mecanismo de ação dessa proteína ainda é desconhecido, mas sabe-se que a mesma é capaz de seqüestrar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (principalmente o radical hidroxil), diminuindo o dano tecidual causado por estes intermediários altamente reativos (29).

Em estudos posteriores *in vitro*, verificou-se que a vitamina D não possuía qualquer efeito antioxidante intrínseco. No entanto, na presença da vitamina D, foi observado um aumento na atividade e, conseqüentemente, na eficácia da metalotioneína, intensificando a proteção da pele aos danos causados pela radiação UVB (29).

A vitamina D é, então, uma indutora da metalotioneína menos tóxica que os metais pesados. No entanto, seu emprego ainda é pouco recomendado, já que é prontamente absorvida pela pele, afetando o metabolismo do cálcio. Logo, seus análogos, como o calcipotriol, devem ser estudados, a fim de verificar se possuem a mesma capacidade de induzir fotoproteção que a vitamina, porém, sem perturbar o metabolismo do cálcio (29).

### Licopeno

Os carotenóides são capazes de prevenir os danos causados pela radiação UV, principalmente, devido a sua ação sinérgica com outros antioxidantes como o  $\alpha$ -tocoferol e o ácido ascórbico. Eles são capazes de reparar o radical tocoferol e, por sua vez, de serem reparados pelo ácido ascórbico (8).

A capacidade de neutralizar radicais livres e espécies reativas de oxigênio não é igual para todos os carotenos. O licopeno, um carotenóide insaturado e de cadeia aberta, responsável pela coloração vermelha das frutas, demonstrou possuir o maior potencial redutor desta classe de substâncias, sendo o candidato mais promissor como antioxidante de uso tópico (8).

Em estudo *in vivo*, utilizando uma formulação gel-creme contendo extrato seco de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil.) padronizado em 6% de licopeno, pôde-se comprovar a inibição da resposta eritematosa frente à radiação UV. Esse efeito foi atribuído à ação antioxidante do licopeno, já que o produto não possuía a propriedade de filtrar os raios solares (8).

### Flavonóides

Os flavonóides são uma importante classe de polifenóis presente em relativa abundância entre os metabólitos secundários dos vegetais (12). Devido a sua ação antioxidante, muitos deles têm sido estudados para avaliação de seu potencial fotoprotetor (16).

A quercetina é um flavonol que apresenta poder de seqüestrar radicais hidroxil e oxigênio singlete, inibir a ciclooxigenase e quelar metais de transição. No entanto, a quercetina não é capaz de penetrar na pele. Ao promover a esterificação da hidroxila de seu C-3 com uma cadeia alifática dá-se origem a vários derivados semi-sintéticos. Um estudo identificou que cadeias laterais curtas (como quercetina-3-O-acetato e quercetina-3-O-propionato) proporcionam melhores características físico-químicas, já que, além de manter a eficácia antioxidante, são capazes de transpor as membranas biológicas, sendo compostos mais adequados para promover fotoproteção da pele (17).

A apigenina é outro flavonóide presente nas folhas de muitas frutas e vegetais. Em estudo foi demonstrado que o tratamento de fibroblastos humanos com apigenina levou a um maior controle da fase G1 do ciclo celular e o tratamento de queratinócitos de camundongo resultou na estabilização da proteína p53 dos mesmos. Todas essas evidências sugerem que a aplicação tópica de apigenina é eficaz na prevenção da fotocarcinogênese (10).

O *Ginkgo biloba* L. é mundialmente empregado na prevenção de doenças degenerativas devido a sua ação anti-radicaís livres (18). Apresenta em suas folhas os flavonóides quercetina, apigenina, catequina, rutina e luteolina. O uso tópico do extrato de ginkgo biloba, além da ação antioxidante, exibe poder antiinflamatório e capacidade de induzir a atividade das enzimas superóxido dismutase e a catalase presentes na epiderme de camundongos (10).

A silimarina é uma mistura de flavonóides polifenólicos isolados da planta cardo-santo (*Silybum marianum* (L.) Gaernt.) e é bastante utilizada em distúrbios hepáticos como a cirrose (19). A mesma demonstrou inibir vários estágios do processo de fotocarcinogênese provavelmente devido ao seu potencial antioxidante. Em queratinócitos humanos, a silimarina impediu a ativação, induzida pela radiação UV, do fator de transcrição NF- $\kappa$ B, uma molécula importante no controle do balanço entre ciclo celular normal, apoptose e oncogênese. Além disso, a silimarina demonstrou inibir, em camundongos, o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) que representa um mediador importante na promoção dos tumores de pele (6). Estudos adicionais ainda atribuíram à silimarina propriedades antiangiogênicas e antiinflamatórias, o que contribui para sua ação anticarcinogênese (10), além da capacidade de inibir a imunossupressão induzida pela radiação UV (19).

### Isoflavonas

As isoflavonas são fitoestrógenos amplamente utilizados no tratamento dos sintomas do climatério. A soja (*Glycine Max* (L.) Merr.) é uma de suas fontes mais tradicionais, sendo rica nas isoflavonas genisteína e daidzeína (6).

Estudos já comprovaram os efeitos antioxidantes e anticarcinogênicos da genisteína na pele humana (10). Essa isoflavona é capaz de inibir a atividade de uma tirosina quinase responsável por fosforilar resíduos intracelulares de tirosina do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGF-R). Com este mecanismo, ela impede a ativação desse receptor importante em mediar a resposta lesiva da radiação UV nas células (20). Adicionalmente, a genisteína seqüestra radicais peróxil, inibindo a lipoperoxidação *in vitro* e *in vivo* e evitando danos ao DNA, como foi demonstrado na inibição da oxidação do DNA, induzida por peróxido de hidrogênio em linfócitos humanos (6). Além dessas atividades de inibição enzimática e antioxidante, a genisteína também estimula a produção de colágeno devido ao seu poder estrogênico, o que implementa a prevenção ao fotoenvelhecimento (6).

Em outro estudo, foi examinado o potencial de isoflavonas da espécie vegetal trifolin ou trevo vermelho (*Trifolium pratense* (L.) em inibir os danos causados pela radiação UV na pele de camundongo. Enquanto as isoflavonas primárias daidzeína, biochanina e formononetina foram ineficazes, genisteína e seus metabólitos equol, isoequol e dehidroequol apresentaram intensa capacidade em reduzir o edema induzido por doses moderadas de radiação UVA e UVB (21). Em camundongos irradiados por 50 dias, a aplicação de uma loção tópica contendo esses derivados reduziu a fotocarcinogênese, mostrando-se ativa tanto na fase de iniciação quanto na fase de promoção tumoral (10). Além disso, uma outra loção contendo apenas equol mostrou diminuir a fotoimunossupressão e a reação inflamatória mesmo quando aplicada após a exposição solar (21).

### Chá verde

O chá verde é uma bebida muito consumida nos países asiáticos. É obtido através da secagem rápida das folhas frescas de *Camellia sinensis*, evitando o processo de fermentação que ocorre na produção do chá preto, o que contribui para a melhor manutenção das propriedades funcionais dos constituintes da planta fresca. No chá verde são encontrados, entre os compostos fenólicos, catecóis e epicatecóis, sendo o (-)-epigalo-catequina-3-galato (EGCG) a substância majoritária, perfazendo aproximadamente 40 % do total da mistura polifenólica (10).

O uso tópico de EGCG demonstrou diminuir o câncer de pele induzido por raios UVB em camundongos e inibir o crescimento de tumores já

existentes. Estudos *in vitro* comprovaram que EGCG é capaz de impedir a oxidação de proteínas e lipídios e também evitar a formação dos dímeros de pirimidina em DNA de células da epiderme humana irradiadas com raios UV (6). Além disso, essa substância é capaz de inibir a resposta inflamatória induzida pela radiação solar (6,10). Todos estes eventos são resultado da capacidade de proteção celular do EGCG, adquirida por três mecanismos distintos: estimulação das defesas antioxidantes endógenas, habilidade inerente de neutralizar radicais livres e modulação dos sinais de transdução importantes no ciclo celular. Ao inibir a fosforilação de proteínas quinases, importantes na ativação da transcrição de genes envolvidos nos processos celulares de proliferação, diferenciação e apoptose, EGCG inibe a carcinogênese e outros danos cutâneos resultantes da exposição crônica à luz solar. Esse mecanismo está diretamente relacionado com a capacidade de impedir o estresse oxidativo induzido pela radiação UV (11).

#### Derivados do ácido cinâmico

O ácido caféico e o ácido ferúlico são dois compostos fenólicos, derivados do ácido cinâmico, amplamente distribuídos no reino vegetal, porém, mais sob a forma de ésteres e heterosídeos (12). Após estudo em humanos, verificou-se que esses ácidos promoviam proteção significativa à pele contra a radiação UVB, já que diminuíram o eritema induzido pela mesma. Testes *in vitro* demonstraram que esses compostos são capazes de inibir a propagação da peroxidação lipídica em biomembranas devido a sua capacidade de seqüestrar radicais livres. A maior lipofilia do ácido ferúlico lhe confere uma maior permeação no estrato córneo, e, por essa razão, seu poder antioxidante também é mais pronunciado que o do ácido caféico, justificando assim, seu emprego preferencial em fotoprotetores (3).

Outro estudo, utilizando extrato etanólico das folhas de *Culcitium reflexum* Kunth, rico em derivados cinâmicos e flavonóides, demonstrou a capacidade do mesmo em inibir a peroxidação num modelo de vesículas multilamelares de fosfatidilcolina. Um gel a 2 %, formulado a partir do extrato desta planta herbácea e nativa da América do Sul, quando aplicado topicamente, provou ser mais eficiente em proteger a pele contra os efeitos prejudiciais da radiação UV que um gel, na mesma concentração, contendo tocoferol, um antioxidante natural e amplamente empregado em formulações fotoprotetoras (5).

#### Extrato de *Polypodium leucotomos*

O extrato hidroalcoólico de *Polypodium leucotomos* Poir. (EPL) contém saponinas formadas por um cetosterol e desóxi-hexoses. Nos países

da América Central, o tratamento sob a forma oral, é muito empregado em doenças de pele como psoríase, dermatite atópica e vitiligo (13). Esse uso está baseado nas suas propriedades antiinflamatórias, imunomoduladoras e antioxidantes já comprovadas em estudos *in vitro* e *in vivo* (14).

O uso tópico deste extrato, em ensaio clínico, demonstrou proteger a pele contra queimaduras solares. Além disso, após tratamento da pele com um agente fotossensibilizante (8-metóxi-psoraleno) e posterior irradiação com raios UVA, houve uma intensa inibição da fototoxicidade na presença do EPL (14). Tais efeitos benéficos provêm da capacidade que o mesmo possui de minimizar a formação das espécies reativas de oxigênio e limitar a resposta inflamatória induzida pela exposição à radiação solar. Entretanto, o poder do EPL de evitar os danos causados pela exposição ao sol vai além de sua capacidade antioxidante e antiinflamatória. Esse extrato foi capaz de impedir alterações morfológicas (rearranjos no citoesqueleto celular) em fibroblastos humanos, quando expostos à radiação UVA. Todos estes mecanismos sugerem que o uso tópico do EPL previne o desenvolvimento dos danos causados pela radiação solar, desde queimaduras e fotoenvelhecimento, até o câncer de pele (15).

#### Neolignanas

O extrato lipofílico da raiz de *Krameria triandra* Ruiz & Pav. é constituído basicamente de neolignanas que possuem propriedades antioxidantes, já que inibem a propagação da cascata peroxidativa induzida pelo radical hidroxil em lipossomas de fosfatidilcolina. O efeito protetor deste extrato foi confirmado em um modelo de alto grau de dano celular, onde queratinócitos foram expostos a uma dose de radiação UVB que induziria a 50 % de morte das células. No entanto, a cultura de queratinócitos suplementada com o extrato de neolignanas teve sua integridade preservada, indicando a capacidade do mesmo em impedir a ação dos radicais livres (25).

Neolignanas possuem uma estrutura mono ou di-fenólicas que, ao perder um hidrogênio para as espécies reativas, origina um radical fenoxil altamente estabilizado por deslocamento eletrônico no núcleo benzofurano. Isso explica sua ação antioxidante e como sua aplicação tópica seria eficaz na proteção da pele contra os fotodanos (25).

#### Resveratrol

Resveratrol é uma fitoalexina polifenólica encontrada em uvas, nozes e vinho tinto que apresenta potente capacidade antioxidante, antiinflamatória e antiproliferativa. Estudos histoquímicos revelaram que a pré-aplicação de resveratrol em pele de camundongo reduziu significativamente a geração de

peróxido de hidrogênio e a infiltração de leucócitos induzidos pela radiação UVB. Além disso, resveratrol mostrou inibir a atividade da ciclooxygenase-2 e diminuir os níveis de lipoperoxidação também estimulados pela radiação UVB. Porém, esses efeitos ainda devem ser avaliados na pele humana a fim de estabelecer seu emprego definitivo em formulações fotoprotetoras (10).

#### Antioxidantes enzimáticos

O corpo, incluindo a pele, possui um potente sistema de defesa enzimático contra o estresse oxidativo. Nos eucariotos, as enzimas de desintoxicação são: superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione peroxidase (GSH-Px) (9). As mesmas caracterizam-se por agir seqüestrando radicais livres na fase de iniciação ou propagação da lipoperoxidação, gerando produtos de menor toxicidade ao organismo. Assim, evitam o acúmulo de espécies reativas, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical superóxido, impedindo a formação do radical hidroxil, que é muito mais reativo e danoso ao organismo (1).

A atividade enzimática na superfície da pele apresenta-se reduzida e até mesmo destruída sob o impacto da agressão causada pela radiação UV. Alguns trabalhos sugerem que catalase, SOD e GSH-Px estão menos presentes e menos ativas no verão do que no inverno. Portanto, nessas circunstâncias em que a pele mais precisa de proteção, seria necessária a reposição dessas enzimas antioxidantes (9).

*Thermus thermophilus*, pertencente a uma linhagem termofílica de bactérias, encontrada nas profundezas do Golfo da Califórnia, serviu de matéria-prima para a extração de enzimas termoestáveis. Através de uma série de testes *in vitro*, comprovou-se a presença de atividade SOD, peróxido convertase e glutathione peroxidase. Sendo assim, esse complexo enzimático demonstrou inibir a lipoperoxidação da membrana celular de fibroblastos e proteger o DNA dessas mesmas células contra lesões induzidas por UVA através da inibição do estresse oxidativo (9).

#### Proteínas da seda

O bicho-da-seda (*Bombyx mori*) é capaz de sintetizar uma família de proteínas chamada sericina que apresenta forte atividade antioxidante. Essa ação parece estar relacionada com sua capacidade de quelar o metal cobre, que tem uma participação importante na formação de radicais livres (26).

Com a aplicação tópica de sericina na pele de camundongos, após irradiação da mesma com raios UVB, foi observada uma redução nos níveis de 4-hidróxi-nonenal, um dos principais produtos da lipoperoxidação da membrana celular. Sendo este

composto um indutor da expressão gênica da ciclooxygenase-2, a atividade dessa enzima pró-inflamatória também estará diminuída. Assim, a utilização dessa família de proteínas da seda demonstrou exercer uma ação fotoprotetora, tanto para os danos agudos causados pela radiação UVB (inflamação e proliferação celular), quanto para danos em longo prazo (promoção tumoral), já que se pôde comprovar uma intensa inibição do estresse oxidativo (26).

Aliado ao fato de promover diminuição dos danos causados pelos raios solares, a sericina ainda possui um forte efeito hidratante devido a sua composição de aminoácidos. Essa capacidade de hidratação é mais um mecanismo que ajuda a manter a integridade da pele, evitando, entre outros efeitos nocivos do sol, o fotoenvelhecimento (26).

#### N-Acetil cisteína

Derivado do aminoácido cisteína e precursor da glutathione, N-acetil cisteína (NAC) é utilizada como antídoto nas intoxicações por paracetamol e como mucolítico em doenças pulmonares. Quando utilizada topicamente, é capaz de estimular a capacidade antioxidante da pele por aumentar as reservas de glutathione na sua forma reduzida (20).

A radiação UV e os radicais livres por ela formados desencadeiam uma cascata de sinais que levam à expressão gênica de diversas proteínas envolvidas no processo de fotoenvelhecimento. NAC é capaz de diminuir a expressão do fator de transcrição c-Jun envolvido na síntese da colagenase, uma proteína capaz de destruir a matriz extracelular da derme. Dessa forma, o uso tópico de uma solução de NAC a 20 % na pele humana mostrou-se capaz de prevenir o aparecimento de rugas e linhas de expressão associadas à exposição crônica ao sol (20).

#### Melatonina

A melatonina (N-acetil-5-hidróxi-triptamina) é um neuro-hormônio produzido pela glândula pineal que possui um papel fundamental na indução do sono e regulação do ritmo biológico. Além disso, a melatonina demonstrou efeitos antioxidantes ao seqüestrar radicais livres e estimular as defesas antioxidantes endógenas (22). Sua aplicação tópica demonstrou suprimir o desenvolvimento de eritema após exposição aos raios solares. No entanto, estudos indicaram que, após duas horas, a melatonina é completamente fotodegradada a dois produtos: N-acetil-N-formil-5-metóxi-quinurenina e N-hidróxi-melatonina. Logo, a proteção frente à radiação UV deve-se, não só à melatonina, como também aos seus produtos de degradação que conservam a capacidade de reduzir a formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (23).

Por ser uma molécula rica em elétrons, a melatonina interage com os radicais livres formando produtos estáveis que são eliminados na urina. Devido ao fato de não participar de reações redox cíclicas e, portanto, não agir como um pró-oxidante, a melatonina parece ser mais potente que antioxidantes clássicos, como o tocoferol, a vitamina C e a glutatona (23).

A capacidade da melatonina de também induzir a fluidificação das bicamadas lipídicas parece ser um mecanismo adicional na proteção frente ao estresse fotooxidativo. Quanto menos rígida e mais desorganizada for a estrutura das membranas lipídicas, maior será a interação dos antioxidantes endógenos com as espécies reativas causadoras da lipoperoxidação. Além disso, pela capacidade de atravessar barreiras biológicas, a melatonina tem acesso a sítios intracelulares bastante vulneráveis ao dano oxidativo, demonstrando com isso, proteger, não só as membranas, como também componentes intracelulares e o próprio DNA frente aos efeitos prejudiciais induzidos pela radiação UV (24).

### Zinco

Zinco é um metal presente em todos os órgãos, tecidos e fluidos do corpo. A pele e seus apêndices são ricos em zinco: chegam a conter aproximadamente 20 % do total presente no organismo. A aplicação tópica de  $ZnCl_2$  a 1 % demonstrou proteger a pele de camundongo contra a formação de queimaduras frente à exposição aos raios UVA e UVB (34).

O mecanismo da ação antioxidante do zinco não está completamente estabelecido, sendo duas as principais hipóteses sugeridas. Na primeira, o zinco deslocaria metais, como ferro e cobre, capazes de transferir elétrons, e ajudaria na produção de espécies reativas de oxigênio. Assim, como o zinco é estável frente a reações redox, já que em pH fisiológico apresenta um único estado de ionização, haveria uma drástica diminuição na formação desses radicais pela exposição da pele à radiação UV. A segunda hipótese sugere que o efeito protetor do zinco frente ao estresse fotooxidativo estaria relacionado tanto com a indução da síntese de metalotioneína (capaz de seqüestrar radicais livres) quanto à ligação do metal a essa proteína. O complexo então formado, zinco-metalotioneína, serviria como sítio preferencial para o ataque oxidativo, protegendo as células e tecidos vizinhos da ação deletéria dos radicais livres (34).

### Selênio

O selênio é um micronutriente essencial para as enzimas glutatona peroxidase e tioredoxina redutase, ambas envolvidas na defesa contra o estresse oxidativo em mamíferos, sendo vitais para manter estável o balanço redox nas células. Nessas enzimas, o selênio está presente sob a forma de selenocisteína (6).

Vários estudos utilizando culturas celulares demonstraram o efeito protetor deste nutriente contra os danos induzido pela radiação UV, incluindo citotoxicidade, oxidação do DNA e lipoperoxidação. A aplicação tópica de *L*-selenometionina preservou camundongos dos efeitos nocivos resultantes da radiação UV como eritema e câncer de pele e, em seres humanos, aumentou a dose mínima de radiação necessária para o desenvolvimento de eritema (6).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através de mecanismos de ação (tabela 1) e características específicas extremamente variáveis, a administração tópica de antioxidantes, enzimáticos e não-enzimáticos, representa uma estratégia efetiva na proteção da pele contra os danos mediados pela radiação UV, já que, além de bloquear os intermediários oxidativos gerados, apresentam a vantagem de repor a níveis fisiológicos os antioxidantes perdidos diretamente no local onde ocorre essa deficiência. No entanto, muitos antioxidantes têm efeito pró-oxidante *in vitro*, em elevadas concentrações ou sob condições especiais, como alta pressão de oxigênio. Portanto, estudos em modelos animais, utilizando as doses terapêuticas empregadas, são necessários para eliminar a hipótese de efeito pró-oxidante *in vivo* e garantir um sistema de fotoproteção eficaz e seguro.

No mercado atual, já se pode encontrar uma diversidade de antioxidantes (como vitamina E, vitamina C, licopeno, compostos fenólicos de origem vegetal, entre outros) adicionados a formulações fotoprotetoras. Essa tendência apenas reflete a real necessidade de se otimizar a fotoproteção e, dessa forma, diminuir os efeitos nocivos da luz solar, mas, principalmente, reduzir os índices mundiais cada vez mais elevados de câncer de pele. Além disso, é importante que todo e qualquer produto ao ser comercializado deva obedecer às normas vigentes da nossa legislação. A segurança e eficácia dos produtos devem ser garantidas não só para manter a qualidade do produto, mas, sobretudo, visando assegurar a saúde do consumidor.

**Tabela 1** – Mecanismos de ação antioxidante de alguns antioxidantes de uso tópico

| Antioxidante(s)                         | Mecanismos de Ação  | Referências        |
|---|---|--------------------|
| Vitamina E                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Absorve a radiação UVB</li> <li>· Seqüestra ERO e RL</li> <li>· Inibe a ativação de NF-<math>\kappa</math>B pela radiação UVB</li> <li>· Protege contra a imunossupressão</li> </ul>   | (4, 6, 10, 30, 31) |
| Vitamina C                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Regenera o radical tocoferoxil</li> <li>· Essencial para síntese de colágeno</li> <li>· Inibe a tirosina quinase</li> <li>· Modula o fator de transcrição AP-1</li> </ul>  | (4, 6, 10, 27, 28) |
| Vitamina D                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Estimula a atividade da metalotioneína (forte poder seqüestrante de RL)</li> </ul>   | (29)               |
| Licopeno                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Regenera radical tocoferoxil</li> <li>· Neutraliza ERO e RL</li> </ul>   | (8)                |
| Flavonóides                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Seqüestram RL e ERO</li> <li>· Quelam metais de transição</li> <li>· Inibem a COX e impedem imunossupressão induzida por UVB</li> <li>· Inibem a ativação de NF-<math>\kappa</math>B e TNF-<math>\alpha</math> pela radiação UVB</li> <li>· Diminuem a atividade de proteínas quinases</li> <li>· Regulam o ciclo celular</li> </ul>                       | (6, 10, 17, 19)    |
| Isoflavonas                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Seqüestram RL</li> <li>· Inibem a tirosina quinase</li> <li>· Atividade antiinflamatória</li> <li>· Diminui a expressão do fator de transcrição AP-1</li> </ul>  | (6, 10, 20, 21)    |
| Chá verde                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Seqüestra RL e ERO</li> <li>· Inibe a liberação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induzida por UVB</li> <li>· Modula o fator de transcrição NF-<math>\kappa</math>B</li> <li>· Inibe a expressão do fator de transcrição AP-1</li> <li>· Evita a perda das defesas antioxidantes endógenas</li> <li>· Inibe a resposta inflamatória induzida por UV</li> </ul> | (10, 11)           |
| Derivados do ácido cinâmico             | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Seqüestram RL inibindo a lipoperoxidação</li> <li>· Atividade antiinflamatória e imunomoduladora</li> <li>· Absorvem radiação UV</li> </ul>  | (3, 5, 10)         |
| Extrato de <i>Polypodium leucotomos</i> | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Inibe formação de ERO</li> <li>· Atividade antiinflamatória</li> <li>· Protege as células das mudanças no citoesqueleto induzidas por UVA</li> </ul>   | (13,14,15)         |
| Neolignanas ( <i>Krameria trianda</i> ) | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Absorvem a energia de ativação dos radicais, neutralizando-os</li> </ul>   | (25)               |

Tabela 1 – cont...

| <b>Antioxidante(s)</b>    | <b>Mecanismos de Ação</b>  | <b>Referências</b> |
|---------------------------|--|--------------------|
| Revestero1                | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Seqüestra ERO e RL</li> <li>· Atividade antiinflamatória</li> <li>· Inibe a ativação de NF-kB pela ativação UVB</li> </ul>  | (10)               |
| Antioxidantes enzimáticos | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Transformam íons superóxido iniciais em água, diminuindo a formação do radical hidroxil.</li> <li>· SOD inibe reações de autooxidação dependentes de íons metálicos</li> </ul>  | (1, 9)             |
| Proteínas da seda         | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Quelam o metal cobre</li> <li>· Impedem o aumento da expressão de COX-2 induzido por UVB</li> </ul>   | (26)               |
| N-acetil cisteína         | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Modula mediadores pró-inflamatórios</li> <li>· Inibe a expressão gênica de metaloproteinases (ex: colagenase)</li> <li>· Aumenta a quantidade de glutathione reduzida na pele</li> </ul>  | (20)               |
| Melatonina                | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Seqüestra ERO e RL, especialmente o radical hidroxil</li> <li>· Estimula enzimas antioxidantes</li> <li>· Aumenta a fluidez das membranas lipídicas das células</li> </ul>  | (22, 23, 24)       |
| Zinco                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Desloca metais ferro e cobre nas reações redox impedindo a formação de RL</li> <li>· Induz a síntese de metalotioneína</li> <li>· Liga-se à metalotioneína tornando-se um sítio preferencial para o ataque oxidativo</li> </ul> | (34)               |
| Selênio                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>· Essencial para a atividade das enzimas antioxidantes glutathione peroxidase e tioredoxina redutase</li> </ul>   | (6)                |

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WEBBER, C. **Avaliação do perfil de penetração cutâneo da quercetina**. 2003. 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, 2003.
- RHODES, L.E. *et al.* Effect of eicosapentaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated acid, on UVR-related cancer risk in humans. An assessment of early genotoxic markers. **Carcinogenesis**, v. 24, n.5, p. 919 – 925, 2003.
- SAIJA, A. *et al.* In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 199, p. 39 – 47, 2000.
- FUCHS, J. Potentials and limitations of the natural antioxidants RRR-alpha tocopherol, L-ascorbic acid and b-carotene in cutaneous photoprotection. **Free Radical Biology and Medicine**, v.25, n.7, p. 848 – 873, 1998.
- AQUINO, R. *et al.* Antioxidant and photoprotective activity of a crude extract of *Culcitium reflexum* H.B.K. leaves and their major flavonoids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 183 – 191, 2002.
- PINNEL, S.R. Cutaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 48, p. 1 – 19, 2003.
- STRATTON, S.P.; DORR, R.T.; ALBERTS, D.S. The state-of-the-art in chemoprevention of skin cancer. **European Journal of Cancer**, v. 36, p. 1292 – 1297, 2000.
- ANDREASSI, M. *et al.* Antioxidant activity of topically applied lycopene. **European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 18, p. 52 – 55, 2004.
- MANSUR, C.A.V. Proteção cosmética originada das profundezas do oceano. **Cosmetics & Toiletries**, v. 14, p. 68 – 72, 2003
- F'GUYER, S.; AFAQ, F.; MUKHTAR, H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v. 19, p. 56 – 72, 2003.
- VAYALIL, P.K.; ELMETS, C.A.; KATIYAR, S.K. Treatment of green tea polyphenols in hydrophilic cream prevents UVB-induced oxidation of lipids and proteins, depletion of antioxidant enzymes and phosphorylation of MAPK proteins in SKH-1 hairless mouse skin. **Carcinogenesis**, v. 24, n. 5, p. 927 – 936, 2003
- SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003.
- GONZÁLEZ, S. *et al.* Inhibition of ultraviolet-induced formation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, erythema and skin photosensitization by *Polypodium leucotomos*. **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v. 12, p. 45-56, 1996.
- GONZÁLEZ, S. *et al.* Topical or oral administration with an extract of *Polypodium leucotomos* prevents acute sunburn and psoralen-induced phototoxic reactions as well as depletion of Langerhans cells in human skin. **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v. 13, p. 50-60, 1997.
- LEBRERO, J.L.A., *et al.* Photoprotective properties of a hydrophilic extract of the fern *Polypodium leucotomos* on human skin cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 70, p. 31 – 37, 2003.
- AFAQ, F. *et al.* Botanical antioxidants for chemoprevention of photocarcinogenesis. **Front Bioscience**, v. 7, p. 84 – 92, 2002
- SAIJA, A. *et al.* In vitro antioxidant and photo-protective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 56, p. 167 – 174, 2003.
- RATES, S.; SALLES, L. **Polígrafo de Aulas Práticas**, disciplina de Farmacognosia II – Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre: UFRGS, 2003.
- KATIYAR, S.K. Treatment of silymarin, a plant flavonoid, prevents ultraviolet light-induced immune suppression and oxidative stress in mouse skin. **International Journal of Oncology**, v. 21, n. 6, p. 1213 – 1222, 2002.

KANG, S. *et al.* Topical N-acetyl cysteine and genisteína prevent ultraviolet light-induced signaling that leads to photoaging in human skin *in vivo*. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 120, n. 5, p. 835 – 841, 2003.

WIDYARINI, S. *et al.* Isoflavonoid compounds from red clover (*Trifolium pratense*) protect from inflammation and immune suppression induced by UV radiation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 74, n. 3, p. 465 – 470, 2001.

FISCHER, T.W. *et al.* Melatonin reduces UV-induced reactive oxygen species in a dose-dependent manner in IL-3-stimulated leukocytes. **Journal of Pineal Research**, v. 45, p. 31 – 39, 2001.

MAHARAJ, D.S. *et al.* The identification of the UV degradants of melatonin and their ability to scavenge free radicals. **Journal of Pineal Research**, v. 32, n. 4, p. 257, 2002.

SAIJA, A. *et al.* Interaction of melatonin with model membranes and possible implications in its photoprotective activity. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 53, p. 209 – 215, 2002.

CARINI, M. *et al.* Antioxidant and photoprotective activity of a lipophilic extract containing neolignans from *Krameria triandra* roots. **Planta Médica**, v. 69, p. 193 – 197, 2002.

ZHAORIGETU, S. *et al.* Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 71, p. 11 – 17, 2003.

TROMMER, H. *et al.* Role of ascorbic acid in stratum corneum lipid models exposed to UV irradiation. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 7, p. 982 – 992, 2002.

DALCIN, K.B.; SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S. Vitamina C e seus derivados em produtos dermatológicos: aplicações e estabilidade. **Caderno de Farmácia**, v. 19, n.2, p. 69 - 79, 2003.

LEE, J.; YOUN, J.I. The photoprotective effect of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on ultraviolet light B-induced damage in Keratinocyte and its mechanism of action. **Journal of Dermatological Science**, v. 18, p. 11 – 18, 1998.

Mc VEAN, M.; LIEBLER, D.C. Prevention of DNA photodamage by vitamin E compounds and sunscreens: roles of ultraviolet absorbance and cellular uptake. **Molecular Carcinogenesis**, v. 24, n.3, p. 169 – 176, 1999.

NAKAYAMA, S. *et al.* Protective effect of  $\alpha$ -tocopherol-6-O-phosphate against ultraviolet B-induced damage in cultured mouse skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 121, n. 2, p. 406 – 411, 2003.

KROL, E.S.; KRAMER-STICKLAND, K.A.; LIEBLER, D.C. Photoprotective actions of topically applied vitamin E. **Drug Metabolism Review**, v. 32, n. 3-4, p. 413 – 420, 2000.

**Endereço para correspondência:**

Profª. Drª. Sílvia S. Guterres  
Faculdade de Farmácia/UFRGS  
Av. Ipiranga, 2752  
90610-000 Porto Alegre, RS  
e-mail: nanoc@farmacia.ufrgs.br

**Recebido em: 21.7.2004.**

**Aceito em: 17.8.2004.**

**Revisto em: 6.11.2004.**