

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO E CONTROLE DE MEDICAMENTOS
DISCIPLINA DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA**



O Uso de Fatores de Crescimento em Cosméticos para Rejuvenescimento da Pele

Letícia Peres Oliveira

Porto Alegre, novembro de 2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO E CONTROLE DE MEDICAMENTOS
DISCIPLINA DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA**

O Uso de Fatores de Crescimento em Cosméticos para
Rejuvenescimento da Pele

Letícia Peres Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso da Disciplina de Estágio Curricular em
Farmácia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sílvia Stanisçuaski Guterres

Co-orientadora: Prof^a. MSc. Karina Paese

Porto Alegre, novembro de 2010

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais Amílcar e Anna Maria, pela paciência e apoio durante a execução desse trabalho. O amor de vocês é fundamental para a minha vida. Por isto, hoje, sei que finalizo uma etapa importante dela. O dever de vocês está cumprido.

Agradeço aos meus irmãos Rodrigo e Ricardo, e às suas esposas Silvana e Manuela, simplesmente por fazerem parte da minha vida com tanto amor e carinho.

Arthur, meu afilhado, agradeço-te pelos momentos de alegria e amor cada vez mais intensos. Tu és a estrela brilhante do meu céu.

Aos meus amigos, em especial às “gurias”, por me ajudarem a aliviar as tensões que surgem no final de um curso superior. A ajuda mútua nessas horas é fundamental para o andamento do trabalho.

Agradeço à Prof^a. Karina pelos momentos de atenção, paciência e amizade e à Prof^a. Sílvia por acreditar em minha idéia.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul por me proporcionar a oportunidade de frequentar o curso de Farmácia, o qual finalizo com este trabalho.

APRESENTAÇÃO

Este trabalho corresponde ao trabalho de conclusão da disciplina de Estágio Curricular em Farmácia, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Ele é pré-requisito para a obtenção do grau de Farmacêutico e foi elaborado no formato de artigo científico, de acordo com as normas da revista *Cosmetics and Toiletries*. Em anexo ao trabalho, seguem as normas para a formatação de artigos a serem submetidos à revista em questão para a análise da banca examinadora.

O Uso de Fatores de Crescimento em Cosméticos para Rejuvenescimento da Pele.

Letícia Peres OLIVEIRA¹, Karina PAESE², Sílvia Stanisçuaski GUTERRES³

¹ Discente do curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia, UFRGS. E-mail: leticiapoliveira@via-rs.net

² Professora substituta da disciplina de Farmacotécnica, UFRGS.

³ Professora da disciplina de Farmacotécnica, UFRGS. Departamento de Produção e Controle de Medicamentos. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 2752, CEP: 90680-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

RESUMO

Fatores de crescimento são proteínas regulatórias endógenas, envolvidas na sinalização celular, que são utilizadas no processo de regeneração da pele. Atualmente, essas moléculas têm sido estudadas como possíveis ativos na atenuação dos sinais do envelhecimento, especialmente no facial. Este artigo reúne os trabalhos já publicados, apresentando e avaliando seus resultados.

ABSTRACT

Growth factors are endogenous regulatory proteins involved in cellular signaling, which are used in the skin regeneration process. Currently, these molecules have been studied as potential assets in mitigation of the signs of aging, especially facial. This article brings together the works already published, presenting and evaluating their results.

RESUMEM

Factores de crecimiento son proteínas reguladoras endógenas, implicadas en la señalización celular, que son utilizadas en el proceso de regeneración de la piel. En la actualidad, estas moléculas han sido estudiadas como posibles activos en el alivio de los señales de envejecimiento, sobre todo facial. En este artículo se reúne los trabajos ya publicados, presentando y evaluando sus resultados.

1. INTRODUÇÃO

A pele consiste no revestimento externo do corpo humano e sua aparência reflete a saúde e beleza de um indivíduo. É considerado o maior órgão do corpo humano cuja função primária é isolar os demais órgãos do meio exterior¹. Além disso, desempenha uma função estética e psicológica muito importante, já que a sua aparência influencia na identidade pessoal e em características como auto-estima e relacionamentos sociais³. O envelhecimento da pele, em suas diferentes formas, vem sendo estudado por diversos pesquisadores que objetivam desenvolver mecanismos para devolver à pele envelhecida características e aparência de juventude, ou reduzir a velocidade com que o processo de envelhecimento ocorre. Porém, não é uma tarefa tão simples, pois o envelhecimento cutâneo é um processo complexo, que envolve fatores intrínsecos e extrínsecos.

A indústria cosmética participa ativamente dessa busca pela juventude, pesquisando substâncias e desenvolvendo produtos que revertam os sinais do envelhecimento, que geralmente se manifestam como rugas profundas, linhas de expressão e manchas. O apelo comercial dos produtos é cada vez maior, despertando nos consumidores uma necessidade de envelhecer sem apresentar os sinais característicos deste processo³. Hoje, podemos encontrar uma gama enorme de produtos que prometem reverter estes sinais, com os mais diversos mecanismos de ação, que variam com as substâncias ativas utilizadas.

Dentre as diversas substâncias descobertas e utilizadas com o propósito de melhorar a aparência da pele, surgem os fatores de crescimento. Originalmente, fatores de crescimento têm sido utilizados no tratamento de feridas, atuando no processo de cicatrização e regeneração celular^{13,14,18,20,23}. O poder de atuar nestas injúrias vem sendo aplicado ao rejuvenescimento da pele como uma nova alternativa para atenuar sinais da idade^{17,18,19,20,22,23}.

Visto a crescente quantidade de experimentos e dados relacionados ao uso dos fatores de crescimento, para reverter sinais do envelhecimento cutâneo, este trabalho tem como objetivo reunir os resultados já apresentados, bem como discutir sua viabilidade.

2. METODOLOGIA

Durante os meses de agosto, setembro e outubro do ano de 2010, foi realizada uma revisão bibliográfica sobre o assunto em questão, tendo sido consultados artigos selecionados a partir de pesquisa das bases de dados PubMed, SciELO, ScienceDirect, ISI Web of Knowledge, EBSCO Host, utilizando palavras-chave como *skin aging*, *photoaging*, *photodamage*, *wound healing*, *growth factors*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Anatomia da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo responsável por 15% do peso corporal². Ela é o órgão que reveste o organismo e desempenha funções importantes, como: conservação da homeostasia, proteção, termoregulação, percepção de sentidos e secreção de resíduos metabólicos^{1,2}. Este órgão sofre alterações constantes e apresenta grande capacidade de renovação e reparação². É constituída por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme^{1,2}.

A epiderme é um tecido epitelial estratificado queratinizado², composto pelas camadas córnea (mais externa), lúcida, granulosa, espinhosa e basal (mais interna). Na epiderme, encontram-se células como queratinócitos e melanócitos¹. Os queratinócitos sintetizam queratina, a principal estrutura proteica da epiderme. A queratina foi descoberta em 1970 e, até hoje, trinta tipos diferentes de moléculas de queratina já foram identificados. As diferentes moléculas de queratina existem em pares e mutações nos genes que codificam essas moléculas são responsáveis por fragilidade e lise celular. Os queratinócitos também produzem citocinas, que atuam como mediadoras químicas ativadoras de processos celulares (interleucinas, interferons, ativadores de plaquetas, fatores de crescimento). Geralmente, elas se ligam a receptores, na superfície das células epiteliais, e modulam a atividade das mesmas, estimulando ou inibindo a secreção, divisão, migração e outros processos celulares. As citocinas também desempenham papel importante no processo inflamatório, imunorregulação, crescimento e reparo, permitindo que as células da epiderme se comuniquem e influenciem as células da derme. A produção destas citocinas é estimulada por ferimentos cutâneos, inclusive microlesões causadas pela ação dos raios ultravioleta²⁶.

Entre a epiderme e a derme, encontra-se a junção dermoepidérmica, que consiste em uma região de união das duas camadas, onde a epiderme penetra na derme por meio de cones interpapilares, e a derme projeta-se na

epiderme através de papilas dérmicas. Esta junção funciona como suporte para a epiderme e determina a polaridade do crescimento e amadurecimento de suas células. Além disso, a interação das duas camadas via junção dermoepidérmica é fundamental para os processos de reparação da pele².

A derme é a camada de tecido conjuntivo intermediária, composta por fibras conjuntivas colágenas (95%), reticulares e elásticas (elastina)¹, que fornece suporte nutricional à epiderme. É dividida em camada papilar, que fica em contato com a epiderme, e camada reticular, constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, onde predominam as fibras colágenas. Na derme se localizam os vasos sanguíneos e linfáticos, o conjunto de nervos da pele, além de outros apêndices epidérmicos: pêlos, glândulas sebáceas e sudoríparas¹. As células residentes da derme são fibroblastos, histiócitos, células dendríticas e mastócitos. Já, linfócitos e plasmócitos, são consideradas células transitórias².

A principal molécula da derme é o colágeno, que responde a 75% do peso seco da derme e é responsável por prover resistência e elasticidade ao tecido conjuntivo². Trata-se de uma tripla hélice formada por três cadeias polipeptídicas, empacotadas em feixes, adquirindo assim uma grande força de tensão²⁶. O fibroblasto é a célula responsável por sua produção. Fibroblastos sintetizam e secretam cadeias polipeptídicas, denominadas pró-colágeno, que são precursoras da molécula de colágeno¹¹. O pró-colágeno sofre a ação de enzimas que formam as fibras e estas se unem para formarem os feixes². A síntese do colágeno é regulada por dois componentes principais: TGF- β (*fator de crescimento de transformação tipo β*), que estimula a produção e reduz a perda das moléculas já existentes, por inibir as enzimas envolvidas na degradação, e AP-1 (*ativador de proteínas -1*), fator de transcrição induzido por fatores de crescimento e luz solar, que inibe a transcrição do gene regulador do pró-colágeno, inibindo assim sua síntese¹¹. Nos humanos, existem dezenove tipos de moléculas de colágeno, sendo o tipo I o mais encontrado na pele adulta (80%), e o tipo III o mais presente na pele do embrião. Do equilíbrio entre a síntese e degradação do colágeno depende a normalidade do tecido, especialmente durante processos de reparação².

A hipoderme é a camada mais interna e profunda, constituída por lóbulos de lipócitos, delimitados por septos de colágeno². Este manto adiposo atua como isolante térmico e depósito nutritivo de reservas¹, protegendo o organismo contra traumas, modelando o corpo e permitindo a mobilidade da pele em relação às estruturas subjacentes².

3.2. Processo de envelhecimento cutâneo

O envelhecimento é um processo natural que ocorre em todos os seres vivos. Existem duas teorias que explicam esse processo, mas, aparentemente, a fusão de ambas é a chave para entendermos a perda progressiva de funções, especialmente as teciduais. O envelhecimento intrínseco é aquele pré-determinado geneticamente, do qual resulta a lenta deteriorização dos tecidos. As células, progressivamente, perdem sua capacidade proliferativa, adquirem maior resistência à apoptose e têm suas funções de diferenciação alteradas⁷ devido ao encurtamento dos telômeros a cada ciclo celular⁸. As porções terminais dos telômeros encurtam até atingirem um comprimento crítico, onde o ciclo celular é suspenso⁸. Estas alterações são englobadas em um fenômeno denominado senescência celular. Além do processo de senescência celular, ocorre um desaparecimento progressivo do tecido elástico da derme, já que a expressão do gene da elastina reduz significativamente após os 40 anos⁷. A junção dermoepidérmica sofre alterações, ficando mais achatada¹⁷. O dano oxidativo também contribui para o envelhecimento cutâneo. Espécies reativas de oxigênio, os chamados radicais livres, causam danos aos lipídeos, proteínas e ao DNA e influenciam na senescência celular, além de causar danos ao tecido conjuntivo da derme, especialmente ao colágeno⁷.

O envelhecimento extrínseco, por outro lado, é decorrente de fatores ambientais como fumo, exposição à toxinas e, especialmente, exposição à luz ultravioleta (UV)⁶. Estudos comprovam que 80% do envelhecimento cutâneo facial é atribuído à exposição solar sem proteção correta⁷, como o uso de fotoprotetores. A luz UV causa danos ao DNA cujo resultado surge na modificação das funções celulares como replicação e síntese proteica,

resultando, também, no aumento da produção de radicais livres¹¹. O fotoenvelhecimento, envelhecimento causado pela exposição solar, caracteriza-se, clinicamente, pela perda de elasticidade, aumento da aspereza e *secura* da pele, pigmentação irregular, rugas profundas⁷ e telangiectasias⁸. Neste processo, ocorrem mudanças na estrutura e funcionalidade dos principais componentes da matriz extracelular da derme. Ocorre a degradação das fibras elásticas, devido ao aumento da atividade da enzima elastase, em resposta à exposição à radiação UV aguda, bem como alterações na produção de elastina e fibrilina, aumento da expressão de enzimas que degradam a matriz extracelular dérmica e degeneração da rede de colágeno⁷, devido à indução de AP-1¹¹.

Os mecanismos de proteção endógenos da pele, contra os efeitos da radiação UV, envolvem aumento da síntese de melanina, mecanismos de reparação de DNA e produção de antioxidantes⁸. Além disso, evitar a exposição solar no período entre dez horas da manhã e dezesseis horas da tarde e usar proteção adequada (roupas, chapéus, fotoprotetores) são atitudes de prevenção aos sinais causados pelo fotoenvelhecimento. Além da prevenção, existem diversas estratégias para reverter os sinais já existentes do envelhecimento, desde o uso de produtos tópicos até ações mais agressivas, como *peelings* e cirurgias plásticas.

3.3. A origem do uso de fatores do crescimento

Estudos envolvendo o entendimento das funções biológicas dos fatores de crescimento e suas possíveis aplicações terapêuticas vêm sendo realizados há diversas décadas. Muitos deles são dedicados a descobrir o papel de cada uma dessas moléculas no processo de reparo às lesões epiteliais, especialmente na pele^{12,13,14}.

Fatores de crescimento são proteínas regulatórias, que mediam mecanismos de sinalização celular. Capazes de alterar o crescimento, a proliferação e a diferenciação celular, eles desempenham papel importante na manutenção da estrutura e funções de uma pele saudável²³. São fundamentais

para iniciar e manter o processo de cicatrização de ferimentos cutâneos, trabalhando em conjunto com citocinas e outras moléculas¹⁸.

Ferimentos na pele iniciam uma cascata complexa, porém ordenada¹⁸, de eventos, envolvendo diversos tipos de células e moléculas¹². Este processo de reparo inicia imediatamente após o ferimento. As células lesadas liberam fatores de crescimento, como: *fator de crescimento fibroblástico* (FGF), *fator de crescimento epidérmico* (EGF), *fator de crescimento derivado de plaquetas* (PDGF), *fator de crescimento de transformação* (TGF), entre outros¹⁴. De modo geral, a cicatrização de ferimentos na pele passa por três grandes fases: inflamação, granulação e remodelamento¹⁸.

Imediatamente após a ocorrência do ferimento, fatores de crescimento sinalizam o início do processo de reparo²³, recrutando células inflamatórias, como neutrófilos, monócitos e linfócitos, para o local afetado¹². Estas células secretam proteases, que impedem a contaminação do ferimento por microorganismos. Após, inicia-se a fase de formação do tecido novo, que é marcada pela angiogênese massiva¹², induzida, principalmente, pelo *fator de crescimento vascular endotelial* (VEGF)²³. Todos os fatores de crescimento atuam positivamente sobre esse processo, que resulta num tecido avermelhado, caracterizado pela grande presença de capilares, denominado tecido de granulação. Nesta fase, a matriz extracelular começa a ser reconstruída pelos fibroblastos, recrutados pelos *fatores de crescimento de transformação beta* (TGF- β) e por *fatores de crescimento derivados de plaquetas* (PDGF)²³, tornando-se mais densa, devido à deposição de fibras colágenas. Esse processo culmina com o desaparecimento do aspecto granuloso do ferimento¹². Em seguida, enzimas que degradam a matriz (metaloproteinases) remodelam e organizam o novo tecido¹². O remodelamento é um processo que resulta de um balanço entre a síntese e a degradação do colágeno produzido¹⁸, envolvendo a atuação direta de TGF- β , que controla a ativação dos fibroblastos na síntese de colágeno²³ e, geralmente, dura de seis a doze meses¹⁸.

Durante anos, o papel de diversos fatores de crescimento, nesse processo, foi investigado. Todos os estágios do processo de regeneração tecidual são controlados por diversos fatores de crescimento e citocinas¹², o

que os torna peças fundamentais na compreensão do processo. A família dos *fatores de crescimento fibroblásticos* (FGF) acelera a formação do tecido de granulação, aumentando a proliferação e a ativação²³ dos fibroblastos e estimulando a acumulação de colágeno, além de serem fortes estimulantes da divisão celular das células endoteliais¹⁴. Estudos já relacionaram uma reduzida expressão de FGF com desordens na cicatrização¹². A família dos *fatores de crescimento derivados de plaquetas* (PDGF) é poderosa vasoconstritora, o que justifica sua imediata liberação pelas plaquetas no momento da lesão¹⁴. Também acelera o processo de formação do tecido de granulação, induz a expressão de colágeno nos fibroblastos¹⁴ e atua no recrutamento destas células²³. Porém, PDGF induz a síntese de outro fator de crescimento, o TGF- β , o que sugere que seu efeito possa ser indireto¹⁴. O *fator de crescimento vascular endotelial* (VEGF) é o maior regulador da angiogênese do processo de regeneração, sendo sua expressão muito induzida após um ferimento cutâneo¹². Ele facilita indiretamente a produção de componentes da matriz extracelular por prover suprimento sanguíneo e nutricional ao tecido²³. A família dos *fatores de crescimento epidérmicos* (EGF) é liberada pelas plaquetas no local do ferimento e facilita a regeneração celular na epiderme, estimulando a proliferação e migração dos queratinócitos. Promovem também a migração e proliferação dos fibroblastos e estimulam a formação do tecido de granulação¹². O EGF foi o primeiro fator de crescimento a ser isolado em 1962¹². Alguns estudos sugerem que a administração de EGF exógeno não atua somente na epiderme mas também melhora a síntese da matriz extracelular da derme. Por último, a família dos *fatores de crescimento de transformação- β* (TGF- β) é liberada, no local do ferimento, pela desgranulação das plaquetas. Além disso, nesse processo, moléculas inativas de TGF- β presentes na matriz extracelular, são ativadas¹². As duas fontes imediatas de TGF- β , provavelmente, agem diretamente para iniciar o reparo do tecido lesado. Para isso, atraem células inflamatórias, especialmente macrófagos, por quimiotaxia. Estas células aumentam e mantêm o aporte de fatores de crescimento na área lesada, otimizando o processo¹². Os estudos com TGF- β indicam que esse fator acelera a formação de tecido de granulação¹², estabiliza a junção dermoepidérmica¹⁸ e controla o crescimento e ativação dos fibroblastos nas etapas de síntese de componentes da matriz e

remodelamento²³. TGF- β induz as células a sintetizarem mais moléculas de TGF- β , com o intuito de criar um *feedback* positivo¹⁸, amplificando a sinalização para o local do ferimento¹². Além disso, é um importante regulador da matriz extracelular, estimulando a deposição de colágeno e inibindo as proteases que degradam a matriz¹⁵.

Fatores de crescimento liberados no local do ferimento por plaquetas e outras células atuam localmente nas células que os secretam e nas células vizinhas²³, mas são logo degradados por proteases, cessando seu efeito sinalizador¹⁸. Para a manutenção do processo de reparo, deve ocorrer uma síntese e liberação contínua destas proteínas pelas células inflamatórias, fibroblastos e células epiteliais¹⁸. A atividade dos fatores de crescimento é modulada por outros fatores de crescimento, simultaneamente sintetizados, e por outras moléculas intrínsecas que interagem para manter um balanço homeostático durante o processo de reparo²³. Por isso, acredita-se que a presença de um único fator de crescimento não seja suficiente para regular o processo de regeneração, mas sim a combinação complexa entre diversos deles^{17,18,19,23}.

3.4. Aplicação de fatores de crescimento na atenuação dos sinais de envelhecimento da pele

A pele lesada e a pele envelhecida, tanto intrinsecamente quanto devido à exposição UV, apresentam algumas funções comprometidas em comum^{17,18,19,20,23}. A pele fotoenvelhecida pode ser vista como uma ferida cutânea que não evolui para a cura pois a área afetada é muito grande para que ocorra um reparo eficiente, devido ao ferimento contínuo causado pela exposição repetitiva à luz UV¹⁸. Levando-se em conta que diversas funções cutâneas, que respondem à ação de fatores de crescimento, foram prejudicadas no processo de envelhecimento, pode-se especular que os sinais aparentes desse processo, na pele, possam ser atenuados por uma combinação apropriada de fatores de crescimento e citocinas, semelhante à cura de ferimentos¹⁹.

Alguns pesquisadores vêm se baseando nessa hipótese para testar a eficácia dos fatores de crescimento, quando aplicados topicamente na pele. Ainda são poucos os estudos que visam a aplicar essas moléculas no tratamento anti-idade. Fitzpatrick e colaboradores (2003) testaram a aplicação de uma formulação livre de óleos, contendo uma mistura de fatores de crescimento em quatorze voluntários com, pelo menos, pele tipo II na escala Fitzpatrick. Os voluntários foram instruídos a aplicar a formulação duas vezes ao dia, pela manhã e à noite, em toda a face, durante sessenta dias. Foram realizadas avaliações do fotoenvelhecimento da pele baseadas em uma escala de nove pontos por médicos treinados, biópsia e perfilometria óptica da bochecha, além de auto-avaliação dos voluntários. A perfilometria óptica é uma técnica de metrologia rápida e livre de contato, utilizada para análise da rugosidade de superfícies. Ela se baseia nas diferenças entre a reflexão de um feixe de luz projetado sobre a superfície a ser testada e um feixe de luz projetado sobre uma superfície padrão. Alguns parâmetros, como: média de altura entre o pico, ponto mais alto, e o vale, ponto mais baixo, e média aritmética da rugosidade são comuns de serem analisados²⁸. A região ao redor dos olhos (periorbital) foi a que apresentou melhores resultados, com 12,2% de melhora ($p=0,0003$) na atenuação de rugas e linhas finas. A região ao redor da boca (perioral) teve uma melhora de 8,5% e a espessura da pele aumentou em 30%. Além disso, dos quatorze voluntários, oito afirmaram observar a melhora nos sinais do envelhecimento, sendo cinco destes em mais de uma região da face, e treze afirmaram que gostariam de continuar utilizando o produto¹⁸.

Ehrlich e colaboradores (2006), em estudo clínico bilateral duplo-cego randomizado, testaram uma formulação, contendo TGF- β_1 , extrato de *Cimicifuga racemosa* e vitamina C em uma base siliconada. Em uma etapa do estudo, doze voluntárias foram instruídas a aplicar, em metade da face, a formulação, contendo os três ativos (CRS) e, na outra metade, uma formulação idêntica, porém não contendo o fator de crescimento de transformação β_1 (Vit-C), duas vezes ao dia durante noventa dias. Na outra etapa da investigação, vinte voluntárias foram instruídas a aplicar em metade da face o creme, contendo todos os ativos (CRS), e, na outra metade, aplicar um *serum* contendo apenas uma mistura de fatores de crescimento balanceados (TNS),

duas vezes ao dia, durante noventa dias. Todas as voluntárias da etapa CRS x Vit-C completaram o estudo, e dezenove voluntárias da etapa CRS x TNS completaram o estudo. As voluntárias foram fotografadas antes do início e após o final do tratamento. Além disso, foram realizadas análises do fotoenvelhecimento facial, baseadas em uma escala de cinco pontos antes e depois do tratamento, e aplicados questionários de auto-avaliação. De todas as voluntárias que completaram o estudo (n=31), a média para melhora da aparência das rugas foi de 12%. TNS apresentou melhora significativa ($p=0,03$) de 6,9% das rugas entre as voluntárias do braço CRS x TNS. Vit-C apresentou uma melhora de 6,2% das rugas, porém a análise estatística não demonstrou um sucesso significativo para essa formulação. Do total de voluntárias, vinte e oito demonstraram melhorias na aparência da face e nos escores de rugas quando utilizaram CRS, Vit-C ou TNS. Comparando-se com os escores iniciais, CRS teve sucesso significativo ($p= 1,698^{-0,5}$). Já, a formulação que contém a mistura balanceada de fatores de crescimento, foi a que teve maior índice de satisfação das voluntárias, porém a principal reclamação foi quanto ao odor do produto²⁰.

Em estudo multicêntrico, Lupo e colaboradores (2007) avaliaram a eficácia de uma formulação, contendo uma mistura de fatores de crescimento humanos, cafeína, α -bisabolol, ácido glicirretínico e hialuronato de sódio, em quarenta mulheres de trinta e cinco a sessenta e cinco anos. Elas foram instruídas a aplicar o produto na região periorbital duas vezes ao dia, em apenas metade do rosto, por seis semanas. Os resultados foram avaliados através de fotografias, avaliações clínicas e questionários de auto-avaliação, antes e depois do estudo. Das quarenta voluntárias, trinta e sete completaram o estudo. As avaliações clínicas realizadas, após seis semanas, demonstraram melhora de 14% em rugas, de 15% em olheiras, de 26% em flacidez da pele periorbital e de 28% na textura da pele. Não foram relatados efeitos adversos. Além disso, a auto-avaliação feita pelas voluntárias demonstrou melhoras na textura da pele (37%), aparência (32%), rugas (28%), flacidez (28%), hidratação (26%), redução na transparência (26%), coloração da pele pela manhã (22%) e coloração da pele à noite (19%). Todas as trinta e sete voluntárias (100%) toleraram bem a formulação e 78% declararam que

gostariam de continuar o uso do produto. Os autores atribuem a suavização das olheiras e a redução da transparência da pele periorbital à ação dos fatores de crescimento que, por estimularem a síntese do colágeno e o crescimento das células epiteliais, teriam efeitos benéficos sobre esses dois aspectos. Além disso, os outros componentes ativos do creme poderiam interferir nesse processo, como o hialuronato de sódio, que é um sal do ácido hialurônico e faz parte da gama de componentes naturais da matriz extracelular. Ele confere hidratação à pele por sua alta capacidade de ligar-se às moléculas de água. A cafeína atua como antioxidante, sendo o ácido glicirretínico e o α -bisabolol anti-inflamatórios²¹.

Gold e colaboradores (2007) testaram um creme, contendo uma mistura de fatores de crescimento, em dezoito mulheres com idade entre trinta e cinco e sessenta e cinco anos, com tipos de pele de I a IV na escala Fitzpatrick e com rugas visíveis na região dos olhos e boca. As voluntárias foram instruídas a aplicar o creme em metade da face, pela manhã e à noite, por sessenta dias. Os instrumentos de avaliação foram fotografias e avaliações clínicas, baseadas em uma escala visual de cinco pontos, antes do início do tratamento, trinta, sessenta e setenta e quatro dias após a utilização do creme, além de um questionário de auto-avaliação aplicado antes e depois do tratamento. Em trinta dias, as rugas da região perioral tiveram uma melhora de 8%, e a região periorbital apresentou uma melhora de 9%. Após sessenta dias de tratamento, a redução das rugas, na região perioral, foi de 13%, e na região periorbital de 17%. 83% das voluntárias obtiveram melhoras no escore de rugas em pelo menos 0,5 ponto na região periorbital, e 50% obtiveram essa mesma melhora para a região perioral. Após duas semanas de suspensão do uso do produto (t= 74 dias), os escores de rugas da região periorbital reduziram 20%, e da região perioral 17%. 44% das voluntárias observaram uma melhora no escore de rugas em pelo menos uma das regiões analisadas. Baseados nos valores percentuais de redução das rugas, os autores consideraram os resultados obtidos bastante comparáveis a estudos com regimes de 0,1% de tretinoína, substância amplamente estudada e aplicada em regimes anti-idade¹⁷.

Em outro estudo, Gold e colaboradores (2007), avaliaram, em estudo duplo cego controlado por placebo, a eficácia de um creme contendo uma

mistura de fatores de crescimento, utilizando um equipamento de topografia facial (*Phaseshift Rapid in vivo Measurement of Skin 3D optical skin measuring device – PRIMOS*) em três dimensões, que é capaz de quantificar a profundidade de linhas e rugas finas da pele. Vinte voluntárias aplicaram em uma metade da face o creme ativo e em outra o placebo, duas vezes ao dia durante sessenta dias. Além disso, o uso de fotoprotetor fator 45 foi permitido. Das vinte voluntárias, dezoito completaram o estudo. Foram realizadas análises da topografia da pele da face e avaliações clínicas, baseadas em escala visual de fotoenvelhecimento de cinco pontos, antes e depois da utilização do produto. Na análise topográfica, utilizando PRIMOS, foram observadas reduções de 10% a 18% para o creme ativo, nos parâmetros avaliados (rugosidade média, profundidade média da ruga, profundidade máxima da ruga, profundidade da ruga base, profundidade máxima da ruga base e rugosidade média em escala de 10 pontos). Enquanto, para o placebo, parâmetros como profundidade da ruga base, profundidade máxima da ruga base e profundidade máxima da ruga, não variaram. Na avaliação clínica, ativo e placebo não tiveram diferença nos resultados apresentados. A utilização deste equipamento de topografia facial constatou a superioridade do creme contendo os ativos em relação ao placebo¹⁹.

Em estudo duplo cego randomizado, controlado por placebo com comparação entre grupos paralelos, Metha e colaboradores (2008) compararam os efeitos de um gel livre de óleos e tensoativos, que contém uma mistura de fatores de crescimento e citocinas, com um placebo de mesmo veículo. Os sessenta voluntários participantes foram instruídos a adotar um regime diário de cuidado da pele vinte e oito dias antes do início do estudo. Para isso, foram fornecidos um agente de limpeza suave e um hidratante de uso diário com fator de proteção solar 15. Os voluntários, então, foram randomizados entre formulação ativa e placebo e deviam aplicar o produto após a limpeza com o agente de limpeza suave, porém antes da aplicação do hidratante, duas vezes ao dia, durante seis meses. Eles foram instruídos a retornar para avaliações nos tempos de um, três e seis meses. Foram realizadas análises com perfilometria óptica, fotografias e avaliações por investigadores, que desconheciam qual produto tinha sido utilizado por cada

um dos voluntários, baseando-se em uma escala de cinco pontos. Cinquenta e oito voluntários completaram o estudo. Uma redução significativa ($p < 0,05$) no número e na profundidade das rugas da região orbital foi observada para as linhas principais e finas, nos meses três e seis, nos pacientes tratados com a formulação, contendo fatores de crescimento. Nas avaliações por fotografias, o grupo placebo apresentou uma piora nos sinais do fotoenvelhecimento, enquanto que indivíduos do grupo que utilizou a formulação com os ativos, e que apresentavam grau IV (severo) na escala de fotoenvelhecimento, apresentaram uma melhora significativa ($p = 0,014$) dos sinais após seis meses de tratamento. A avaliação clínica dos voluntários demonstrou uma redução das rugas finas no grupo que aplicou a formulação com os ativos, o que não foi observado para o grupo placebo. Além dessas análises, o estudo realizou uma identificação dos fatores de crescimento presentes na mistura incorporada ao produto ativo. Através de método imunoenzimático (ELISA- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), mais de cento e dez fatores de crescimento e citocinas foram identificados no produto, como, por exemplo: *fator de crescimento fibroblástico (FGF)*, *fator de crescimento de hepatócitos (HGF)*, *fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF)*, *fatores de crescimento tipo insulínico (IGF)*, *fatores de crescimento de transformação (TGF)*, *fator de crescimento vascular endotelial (VEGF)*, *fator de crescimento placentário (PLGF)*, interleucinas diversas e fatores estimuladores de colônias. Sabe-se que proteínas, em geral, são instáveis em ambientes não fisiológicos, como quando inseridos em formulações tópicas^{22,23}. Além disso, a presença de tensoativos, alcoóis e outros excipientes que desnaturem proteínas podem reduzir a estabilidade e comprometer a eficácia do produto^{23,25}. Baseados nestas informações, os autores quantificaram na mistura três dessas proteínas, com o intuito de avaliar sua estabilidade à temperatura ambiente, avaliando também sua vida útil na formulação. Em função das elevadas concentrações encontradas destes marcadores, após estocagem à temperatura ambiente, os autores deduzem que o produto preserva sua atividade e suporta processos de fabricação e estocagem de formulações de uso tópico²².

Hussain e colaboradores (2008) testaram a eficácia de um produto que contém uma mistura de fatores de crescimento, aplicado duas vezes ao dia

durante seis meses, em doze voluntárias. Elas foram instruídas a aplicar o produto pela manhã e à noite na face inteira. Foram realizadas avaliações clínicas, por meio de uma escala de cinco pontos, avaliações histológicas e ultra-estruturais, por meio de biópsias e microscopia eletrônica; e auto-avaliações, por meio de questionários, antes e depois do tratamento. Após os seis meses, as avaliações mostraram uma redução de 33% nas rugas da região periorbital e de 25% para as rugas da região perioral. Além disso, a textura da pele da bochecha melhorou 39% e do queixo 21%. 45% das voluntárias relataram melhora na elasticidade e espessura da pele, 55% relataram melhora nas linhas faciais e rugas, 64% melhora na textura da pele e 73% melhora na hidratação cutânea. A análise histológica demonstrou um aumento na quantidade de fibroblastos em 64% das voluntárias, e 55% tiveram um aumento na espessura da epiderme, o que evidencia alterações na junção dermoepidérmica. A microscopia eletrônica demonstrou um aumento no número de fibras colágenas de pequeno diâmetro, após seis meses de tratamento²⁴.

A mistura de fatores de crescimento, citocinas e proteínas da matriz extracelular humanos pode ser obtida pelo cultivo de fibroblastos e queratinócitos, geralmente em bancos de células embrionárias dedicados à pesquisa e desenvolvimento de produtos para a cura de ferimentos cutâneos^{17,19,21,23}. Culturas de células que crescem submetidas a condições semelhantes às presentes em um ferimento estão mais favoráveis a produzir misturas de fatores de crescimento e citocinas que auxiliem no processo de regeneração²³. Fatores de crescimento secretados, naturalmente, por fibroblastos existem como uma mistura complexa e balanceada de cada um dos que a compõe. Esta mistura não é passível de cópias ou duplicações laboratoriais e nenhum de seus componentes, isoladamente, pode produzir efeitos comparáveis aos produzidos pela mistura²³. Já, a bioengenharia com microorganismos geneticamente modificados é empregada quando se deseja um fator de crescimento isolado, utilizando-se bactérias e leveduras. Este método bloqueia a possibilidade de interações e sinergismos entre eles²³.

A utilização destas substâncias, em produtos de uso tópico, pode ser questionada quanto à sua penetração através da pele, devido ao tamanho de

suas moléculas (aproximadamente 20 kDa)^{17,18,19,23}. Sabe-se que moléculas hidrofílicas maiores do que 500 Da penetram muito pouco através do estrato córneo²⁷. Porém, diversos outros mecanismos são provavelmente responsáveis pela penetração dessas proteínas na pele. Folículos pilosos, glândulas sudoríparas e microlesões do estrato córneo, causadas por falta de hidratação ou uso de produtos irritantes, são possíveis caminhos para a entrada dessas moléculas na pele²³. Além disso, a pele envelhecida é naturalmente mais fina, portanto mais suscetível a perturbações, levando mais tempo para recuperar-se de alguma eventual ruptura em sua função de barreira. Como resultado disto, ocorre uma maior penetração de moléculas proteicas na epiderme envelhecida, podendo ser um ponto favorável à aplicação dos fatores de crescimento por via tópica²³.

Independente do mecanismo de penetração, a quantidade de fatores de crescimento que atravessam a pele é muito pequena. Porém, a comunicação entre a epiderme e a derme, através da junção dermoepidérmica, amplifica o sinal transmitido pela pequena quantidade de fatores penetrantes, iniciando uma cascata de eventos sinalizadores. A penetração dos fatores de crescimento através de uma porção viável da epiderme induz os queratinócitos a sintetizarem mais fatores de crescimento, que ativam os fibroblastos da derme a sintetizarem também as mesmas moléculas. Essa cascata amplifica o sinal inicial e aumenta o recrutamento celular, o que, de uma maneira geral, conduz ao processo de regeneração e remodelamento da matriz extracelular dérmica²³. Assim, o mecanismo de ação proposto para os fatores de crescimento envolve sua capacidade de promover a proliferação celular, especialmente de queratinócitos e fibroblastos, e induzir a síntese de componentes da matriz extracelular, como colágeno, através de suas ações sinalizadoras^{17,19,21,23,24}. A proliferação celular bem como a síntese de matriz extracelular e seus componentes apresentam-se reduzidas na pele envelhecida^{17,19,23,24}, o que justifica o interesse da suplementação tópica destas moléculas.

Não existem riscos relatados de reações adversas causadas pelo uso tópico de fatores de crescimento, além de alergias e dermatite de contato. Existe uma preocupação quanto o uso tópico destas substâncias estimular o

crescimento de células cancerígenas ou pré-cancerígenas em lesões já existentes. Porém, nenhum dado na literatura indica esse efeito¹⁸. Além disso, a quantidade que, de fato, atravessa a barreira da pele não é significativamente elevada para produzir tal estímulo²³.

Baseando-se no fato de que os níveis de fatores de crescimento reduzem com o envelhecimento, e que os mesmos são fundamentais no processo de reparação da matriz extracelular, a suplementação destes, por meio de aplicação tópica, torna-se uma estratégia para cosmecêuticos anti-idade²³. A associação destas moléculas com antioxidantes, e outros ativos que atuem na atenuação dos sinais causados pelo envelhecimento^{20,23}, parece também ser favorável à obtenção de resultados satisfatórios.

Vale ressaltar que, em cosmetologia, estudos controlados por grupos placebo são difíceis de conduzir. Ao contrário de outras vias de administração, veículos de administração tópica podem apresentar benefícios em consequência da hidratação, redução da perda de água ou formação de barreira física que causam na pele²². Este fenômeno pode comprometer os resultados do estudo e até mascarar os reais efeitos dos ativos em questão.

4. CONCLUSÃO

A utilização de fatores de crescimento em formulações para tratamentos anti-idade ainda é uma estratégia nova, que necessita maior investigação. Devido à sua comprovada participação no processo de regeneração tecidual em lesões cutâneas^{12,13,14,15}, essas moléculas passam agora a ser aplicadas em formulações para remodelamento da pele envelhecida, com o intuito de atenuar os sinais do envelhecimento, especialmente facial.

A pele envelhecida apresenta algumas funções reduzidas, como: cicatrização de ferimentos, capacidade de proliferação celular, resposta imune cutânea, produção de citocinas e síntese de fibras colágenas¹⁷. A redução de funções atreladas à manutenção da elasticidade e firmeza da pele é o principal fator que estimula os pesquisadores a descobrirem novas moléculas para reverter este quadro. Então, da suplementação da pele envelhecida com formulações que contenham fatores de crescimento é esperado, de forma geral, um aumento na síntese de colágeno. Este seria o principal objetivo do uso destas moléculas, visando ao remodelamento da pele envelhecida, juntamente com a atenuação de sinais como rugas.

Os estudos e resultados apresentados neste artigo evidenciam o possível efeito benéfico da aplicação tópica de fatores de crescimento na pele envelhecida. Na maioria dos casos, resultados significativos foram observados para produtos contendo essas moléculas, geralmente quando comparados com uma formulação placebo. Porém, maiores avaliações devem ser realizadas no intuito de separar o efeito que, de fato, é produzido pelos fatores de crescimento dos possíveis efeitos produzidos pelos componentes do veículo, que podem mascarar os reais resultados. Além disso, a análise da estabilidade e duração da atividade destas proteínas na formulação também necessita de maiores investigações. Por não se tratar de um ambiente fisiológico, a possibilidade de desnaturação e consequente inativação dos fatores de crescimento é grande. Levando isso em consideração, a escolha correta dos componentes do veículo torna-se fundamental.

O mecanismo de penetração, na pele, por essas proteínas também é uma questão a ser melhor investigada. O uso de novas tecnologias, como por

exemplo a nanoencapsulação, pode favorecer essa penetração, favorecendo, conseqüentemente, o efeito final. Além disso, também podem melhorar as características organolépticas da formulação, como o odor gerado pela degradação dessas proteínas²⁰.

Por fim, a habilidade de reparo da pele promovida pelos fatores de crescimento atrelada à suplementação de componentes teciduais essenciais, que são perdidos devido ao processo de envelhecimento, mostra-se como uma nova alternativa na busca pela juventude prolongada. A associação destas proteínas com antioxidantes, agentes construtores da matriz extracelular e hidratantes da pele, pode produzir efeitos benéficos relacionados ao sinergismo entre os diferentes mecanismos de ação destas substâncias²³. Novos estudos, com um maior número de voluntários e que levem em consideração as questões farmacotécnicas, citadas anteriormente, são necessários para a comprovação dos benefícios evidenciados neste artigo. Assim, novos produtos poderão ser seguramente desenvolvidos e comercializados, enriquecendo ainda mais as estratégias de tratamento anti-idade.

5. REFERÊNCIAS

1. SAMPAIO, S. Dermatologia básica. São Paulo: ESPE editora, 1970.
2. SODRÉ, C. T.; AZULAY, D. R.; AZULAY, R. D. A pele: estrutura, fisiologia e embriologia. In: AZULAY, R. D. *Dermatologia*. 5º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1-15, 2008.
3. GUPTA, M. A.; GILCHREST, B. A. Psychosocial aspects of aging skin. *Dermatologic Clinics*, v. 23, n. 4, p. 643-648, 2005.
4. KOBLENZER, C. S. Psychologic aspects of aging and the skin. *Clinics in Dermatology*, v. 14, n. 2, p 171-177, 1996.
5. Encyclopedia Britannica Premium Service. Aging. *Encyclopedia Britannica*. Disponível em <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/9171/aging>>. Acessado em 14 de setembro de 2010.
6. BERMANN, P. E. Aging skin: causes, treatments and prevention. *Nursing Clinics of North America*, v. 42, n. 3, p. 485-500, 2007.
7. JENKINS, G. Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, v. 123, n. 7, p. 801-810, 2002.
8. RABE, J. H. *et al.* Photoaging: Mechanisms and repair. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 55, n. 1, p. 1-19, 2006.
9. ROKHSAR, C. K.; LEE, S.; FITZPATRICK, R.E. Review of photorejuvenation: Devices, Cosmeceuticals or both? *Dermatologic Surgery*, v. 31, n. 9p2, p. 1166-1178, 2005.
10. MORIWAKI, S.; TAKAHASHI, Y. Photoaging and DNA repair. *Journal of dermatological science*, n. 50, p. 169-176, 2008.
11. KANG, S.; FISCHER, G. J.; VOORHEES, J. J. Photoaging: pathogenesis, prevention and treatment. *Clinics in geriatric medicine*, v. 17, n. 4, p. 643-659, 2001.
12. WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, n. 83, p. 835-870, 2003.
13. HARDWICKE, J. *et al.* Epidermal growth factor therapy and wound healing: past, present and future perspectives. *Surgeon*, v. 6, n. 3, p. 172-177, 2008.
14. MARTIN, P.; McCLUSKEY, J.; MALLUCCI, P.; NODDER, S. Growth factors and wound healing. *Growth Factors and Cytokines in Health and Disease*, v. 3b, p. 499-528, 1997.

15. O'KANE, S.; FERGUSON, M. W. J. Transforming growth factor β and wound healing. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 29, n. 1, p.63-78, 1997.
16. TATESHITA, T.; ONO, I.; KANEKO, F. Effects of collagen matrix containing transforming growth factor β on wound healing. *Journal of Dermatological Science*, n. 27, p. 104-113, 2001.
17. GOLD, M. H.; GOLDMAN, M. P.; BIRON, J. Efficacy of novel skin cream containing mixture of human growth factor and cytokines for skin rejuvenation. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 6, n. 2, p. 197-201, 2007.
18. FITZPATRICK, R. E.; ROSTAN, E. F. Reversal of photodamage with topical growth factor: a pilot study. *Journal of Cosmetic & Laser Therapy*, v. 5, p. 25-34, 2003.
19. GOLD, M. H.; GOLDMAN, M. P.; BIRON, J. Human growth factor and cytokine skin cream for facial skin rejuvenation as assessed by 3D in vivo optical skin imaging. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 3, n. 10, p. 1018-1023, 2007.
20. EHRLICH, M.; RAO, J.; PABBY, A.; GOLDMAN, M. P. Improvement in the appearance of wrinkles with topical transforming growth factor β_1 and L-Ascorbic acid. *American Society for Dermatologic Surgery*, v. 32, n. 5, p. 618-625, 2006.
21. LUPO, M. L.; COHEN, J. L.; RENDON, M. I. Novel eye cream containing a mixture of human growth factors and cytokines for periorbital skin rejuvenation. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 6, n. 7, p. 725-729, 2007.
22. METHA, R.; SMITH, S.; GROVE, G., *et al.* Reduction in facial photodamage by a topical growth factor product. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 7, n. 9, p. 864-871, 2008.
23. SUNDARAM, H.; METHA, R.; NORINE, J., *et al.* Topically applied physiologically balanced growth factors: a new paradigm of skin rejuvenation. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 8, n. 5, p. 4-13, 2009.
24. HUSSAIN, M.; PHELPS, R.; GOLDBERG, D. J. Clinical, histologic and ultrastructural changes after use of human growth factor and cytokine cream for the treatment of skin rejuvenation. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, v. 10, p. 104-109, 2008.
25. MEHTA, R. C.; FITZPATRICK, R. E. Endogenous growth factors as cosmeceuticals. *Dermatologic Therapy*, v. 20, n. 5, p.350-359, 2007.
26. POWELL, J.; SOON, C. Physiology of skin. *Surgery (Oxford)*, v. 20, n. 6, p. 2-6, 2002.

27. BOS, J. D.; MEINARDI, M. H. M. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology*, v. 9, n. 3, p. 165-169, 2000.
28. KAUTZKY, F.; DAHM, M. W.; DROSNER, M.; KÖHLER, L. D.; VOGT, H-J.; BORELLI, S. Direct profilometry of the skin: its reproducibility and variability. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 5, n. 1, p. 15-23, 1995.

ANEXO

Normas para Publicação de Artigos

A revista *Cosmetics & Toiletries Brasil* tem por objetivo a publicação de trabalhos que contenham contribuições ao progresso da Cosmetologia.

Os trabalhos na forma de artigos técnicos, submetidos à publicação, deverão ser inéditos em língua portuguesa e ter conteúdo tecno-científico, devendo obedecer às seguintes normas:

1. O trabalho deverá vir acompanhado de solicitação e Termo de Cessão de Direitos, subscrito pelo autor principal (aquele mencionado em primeiro quando se tratar de dois ou mais autores).

2. O texto deverá ser em português, com abstracts de até 50 palavras em inglês e em espanhol. A Editora reserva-se o direito de proceder à revisão ortográfica e a edição do texto de modo a formatá-lo nos padrões da revista, sem, entretanto, alterar o conteúdo do artigo.

3. A apresentação do texto deverá ser em Word for Windows acompanhado de gráficos, desenhos, esquemas e fotos, igualmente em formato digital.

4. O trabalho deverá conter obrigatoriamente:

a) Título

b) Nome completo dos autores

c) Nome da instituição ou empresa, e cidade e estado onde o trabalho foi realizado

d) Qualificação de cada autor

e) O corpo do artigo poderá constar de introdução, objetivo, material e método ou casuística, resultados, discussão e conclusões, e Referências (referências bibliográficas).

f) A menção de obras e autores deve, sempre que possível, ser no corpo do texto, pela citação numérica, de acordo com a seqüência que aparece nas Referências.

5. Nas Referências devem constar as referências citadas no corpo do texto e numeradas em números arábicos, na seqüência do aparecimento no texto. As Referências seguem as seguintes normas:

a) Artigos e periódicos: EK Boisits, JJ McCormack. Neonatal skin: structure and function, *Cosm & Toiletry* 119(10):54-65, 2005

b) Livros: PA Otta. Principle of perspiration, 7a. edição, Record Books, New York, 1998, 90-140

c) Capítulo de livros: RG Provast. Cutaneous manifestations. In: DJ Wallace, *Cosmetology*, 1a. ed., XPress, Chicago Il., 2004

d) Trabalho apresentado em evento: VC Reis. Efeito da radiação UV na cor dos cabelos. In: Congresso Nacional de Cosmetologia, Rio de Janeiro, Sociedade de Cosmetologia, 1989

e) Tese: RR de Souza. Estudo ultra-sonografico da pele (tese). São Paulo, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual, São Paulo, 1986

f) Material da web: Associação de Dermatologia. Tensoativos e a pele humana. On line. Disponível em:

<http://www.dermatologia.med.br/tensoativos/cosméticos.htm>. Acesso em 5 abr 2003

6. A menção de marcas comerciais é permitida, desde que necessárias para identificar produtos mencionados no texto. Não serão aceitos artigos com propósito único de promoção comercial (merchandising).

7. Os conceitos e opiniões, informações de quaisquer natureza contidas nos trabalhos serão de responsabilidade exclusiva de seus autores.

8. A critério do Editor, os artigos poderão ou não ser publicados nas edições específicas correspondentes às pautas a que se refere o artigo.

9. Os originais de trabalhos não aceitos para publicação, não serão devolvidos ao autor.