



## 5º Congresso de Pesquisa

### **DESENVOLVIMENTO E ESTUDO REOLÓGICO DE FORMULAÇÃO CONTENDO DMAE (DIMETILAMINOETANOL). ESTUDO EXPERIMENTAL DE SEU EFEITO NA PELE, ASSOCIADO COM ELETROESTIMULAÇÃO NEUROMUSCULAR**

#### **Autor(es)**

MARIA LUIZA OZORES POLACOW

#### **Co-Autor(es)**

GISLENE GARCIA FRANCO DO NASCIMENTO  
GISLAINE RICCI LEONARDI  
MARIA SILVIA MARIANI PIRES DE CAMPOS  
MARLUS CHORILLI

#### **Apoio Financeiro**

FAP/UNIMEP

#### **1. Introdução**

Pesquisas científicas sobre os processos que envolvem o envelhecimento cutâneo, bem como os mecanismos moleculares relacionados a estes processos, estão emergindo a fim de estabelecer estratégias para impedir que os efeitos indesejáveis da idade revelem-se na aparência da pele. -sólidos mais utilizados são os géis hidrofílicos e as emulsões óleo/água (O/A) como cremes, loções, ou àquelas estabilizadas por colóide hidrofílico – os géis cremes. Os semi-sólidos possuem propriedades particulares: eles se deformam facilmente, quando aplicados na pele, e ainda permanecem aderidos ao corpo, geralmente até serem removidos por transpiração ou limpeza da pele. Devido a essa particularidade são largamente utilizados como bases dermocosméticas (MARTIN, 1993). O Silicone (emulsão semi-sólida) também vem sendo utilizado como base, com o intuito de melhorar o sensorial e a eficácia das formulações cosméticas, melhorar a aparência da pele, já que podem contribuir para a hidratação cutânea (LEONARDI et al., 2007). MAIBACH, 1989). Existem poucos estudos histológicos sobre o efeito do DMAE na pele e o modelo experimental utilizado é o rato, cuja pele não se assemelha à pele humana, razão da proposição do presente trabalho. Com o envelhecimento, as substâncias químicas e os precursores nutricionais que tonificam os músculos começam a diminuir. Desta forma, a aplicação dos chamados tensores cutâneos seriam capazes de fortalecer a pele a fim de evitar a flacidez da mesma. A acetilcolina, a colina e o dimetilaminoetanol (DMAE), um análogo sintético da colina, são bons candidatos para tal efeito, uma vez que estudos científicos mostram que a acetilcolina está presente em quantidades significantes na pele e também que os receptores

ou enzimas colinérgicas presentes na superfície celular podem modular várias atividades celulares incluindo proliferação, diferenciação, migração e viabilidade (UHODA, et al. 2002). O DMAE começou a ser utilizado em Cosmetologia quando foi observado clinicamente que o uso oral desta substância provocava um efeito não esperado nos pacientes: o enrijecimento da musculatura do pescoço. Desde então ele vem sendo estudado para que haja uma comprovação dos seus efeitos ao combate da flacidez, diminuição das rugas finas, maciez, efeito lifting da pele da face com redução das rugas ao redor dos olhos (TADINI, 2005). O DMAE Pícolato é um derivado do DMAE que contém em sua estrutura química o ácido pírolidônico, também conhecido como pícolato (PCA), que faz parte do Fator de Hidratação Natural (NMF). Devido à sua constituição única, o DMAE Pícolato reúne em sua composição todos os benefícios já consagrados do pícolato juntamente com a ação firmadora do DMAE (GALENA, 2006). DMAE Acetoaminobenzoato é um éster de DMAE, um pó branco à levemente amarelado, ligeiramente solúvel em água e facilmente solúvel em álcool. Para uso tópico ou oral deve ser aplicado um fator de equivalência para que a concentração final seja expressa em DMAE base, esse fator de equivalência é de 3,0 (GALENA, 2006). Existe hoje uma grande variedade de bases cosméticas que podem veicular o DMAE e outras substâncias ativas anti-envelhecimento. Nesta categoria os produtos semi-sólidos ou quase Para se estudar a estabilidade de um produto cosmético é muito utilizado o seu comportamento reológico. Com ele pode-se verificar a consistência do produto e prever a sua estabilidade no decorrer de seu tempo de prateleira (PENA et al., 1993). Os efeitos de substâncias ativas na pele e de recursos físicos podem ser observados por meio de estudos histopatológicos e histométricos e permitem a análise do tecido epitelial, derme, bem como também as características celulares (SILVA; MAIA CAMPOS, 2000). Em estudos de permeação cutânea, é utilizada geralmente pele de suínos, tanto em testes in vitro como in vivo, já que esta é muito semelhante à pele humana (BRONAUGH;

## 2. Objetivos

---

Selecionar, através de estudos preliminares de estabilidade, uma base cosmética que veiculará o DMAE. Avaliar a estabilidade física da formulação selecionada. Estudar os efeitos desta formulação na pele de suínos.

## 3. Desenvolvimento

---

Desenvolveram-se onze formulações de bases cosméticas acrescidas de DMAE pícolato (3%) e DMAE acetoamidobenzoato (3%) para avaliação de seu aspecto visual, sensorial e estabilidade física. Foram descartadas as formulações em que ocorreram separação de fases, e também aquelas que não apresentaram sensorial agradável na pele. As formulações estáveis foram submetidas aos testes de estabilidade preliminar, como, análise visual, teste da centrifuga, avaliação do pH, viscosidade e comportamento reológico. Para o estudo histológico da pele tratada com estas formulações, utilizou-se suínos machos(n=5), híbridos (Landrace x Large White) com cerca de 35 dias e 9 kg . Após tricotomia, delimitou-se as seguintes áreas no dorso: C (Controle) S (Silicone - DC\*LC Silicone Blend 80%); F1 (DC\*LC Blend 80% + DMAE acetoamidobenzoato); F2 (DC\*LC Blend 80% + DMAE pícolato). Após 15 dias de tratamento o sacrifício foi realizado por estocada (perfuração cardíaca), as áreas tratadas foram removidas e fixadas em solução de formol tamponado a 10% por 48 horas e tratadas convenientemente para inclusão em Paraplast Plus. Foram obtidos 5 cortes histológicos de 5 µm em cada lâmina para cada animal e processadas de forma a obter uma coloração em Hematoxilina e Eosina (HE) para posterior análise histopatológica e histométrica, e uma coloração em Pícosírius em uma concentração de 1% (Sírius red em solução saturada de ácido Pítrico) para análise da birrefringência do colágeno. A análise histopatológica foi realizada com ocular reticulada de 10x (ZEISS) e objetiva de 100x onde se obteve, para cada corte histológico, a densidade do número de fibroblastos e leucócitos de dez áreas A avaliação da birrefringência dos feixes colágeno foi obtida com microscópio óptico de polarização (Zeiss Axiolab – ZEISS – Alemanha) com lente objetiva em aumento de 40x e com uma microcâmera (Microcâmera Sony CCD IRIS / RGB COLOR – Japão), responsável pela digitalização das imagens histológicas transmitidas para o computador. Em 5 cortes histológicos por lâminas (n=5) foram obtidas medidas de cinco áreas de 10.000 m m2 cada,

escolhidas aleatoriamente, com software de análise de imagens histológicas (KS 400 2.0 – Kontron Eletronics, Munique, Alemanha). Foi utilizada análise da variância, segundo um delineamento inteiramente ao acaso (ANOVA), e teste F para verificar a diferença entre os tratamentos. O detalhamento da análise para comparação das médias duas a duas, foi feito pelo teste de Tukey, considerando-se significativos os valores de  $p < 0,05$ . Para a análise histométrica utilizou-se uma ocular milimetrada de 10x (ZEISS) e objetiva de 40x onde foi medida a espessura da Epiderme e da Camada Córnea em 10 áreas escolhidas aleatoriamente para cada corte histológico. (22500  $\mu\text{m}^2$  cada) da derme papilar escolhidas aleatoriamente.

#### 4. Resultados

As formulações escolhidas após testes preliminares de estabilidade, viscosidade e estabilidade física constam da Tabela 1. Os resultados deste trabalho mostraram para a epiderme de suínos espessura de 66,4  $\mu\text{m}$ , valor muito próximo ao encontrado por BRONAUGH et al. (1982) 65,8  $\mu\text{m}$ , podendo-se concluir que a metodologia aqui utilizada foi adequada. O grupo tratado com a formulação F1 (DMAE pó) apresentou redução (não significativa) da camada córnea em relação ao controle. Este resultado já era esperado, pois análises clínicas das áreas tratadas com esta formulação apresentaram-se ressecadas, com descamação e pigmentadas. Já os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que o grupo tratado com F2 (DMAE pidolato, que é líquido) apresentou significativo aumento ( $p < 0,05$ ) na espessura da camada córnea, o que pode ser explicado pelo mecanismo de ação do DMAE pidolato, pois sabe-se que ele ajuda a regular a perda de água através da pele, sendo indicado para hidratar peles secas e flácidas (GALENA, 2006). Vale salientar aqui a importância da base na qual o princípio ativo é incorporado, que é fundamental para a estabilidade e permeação deste na pele. O Silicone vem sendo utilizado como base, com o intuito de melhorar o sensorial e a eficácia das formulações cosméticas, melhorar a aparência da pele, já que contribui para a hidratação cutânea (LEONARDI et al, 2007). Pela Tabela 2, observa-se significativo aumento da espessura da epiderme de suínos nas áreas submetidas aos tratamentos com DMAE, tanto com F1, como com F2. Resultado semelhante foi encontrado por Tadini (2005), que utilizou a somente a formulação F1 mas em pele ratos. O estudo histopatológico não evidenciou diferenças no número de fibroblastos e de leucócitos na derme das áreas tratadas e controle, evidenciando que nenhuma destas formulações foi irritante para a pele. As fibras colágenas são as principais e mais abundantes fibras do tecido conjuntivo têm força tênsil e são birrefringentes ao microscópio de polarização sendo esta. Neste trabalho, a base isolada apresentou aumento não significativo ( $p > 0,05$ ) da espessura da camada córnea, o que indica que o DMAE pidolato associado com silicone, foi mais eficiente na hidratação da pele. a melhor maneira de se estudar a ordem molecular e o grau de agregação destas fibras. (VIDAL, 2003). A Tabela 3 mostra que não houve diferença significativa das áreas birrefringentes entre os diferentes grupos experimentais, podendo-se concluir que não houve alteração na secreção nem na formação de fibras colágenas da derme de pele submetida aos diversos tratamentos em relação ao controle. Estudo recente mostrou que o DMAE diminuiu a proliferação de fibroblastos humanos em cultura de tecido (GIANNOCCARO et al., 2007). Este resultado é preocupante visto que estas células são as responsáveis pela síntese de colágeno. Embora sejam poucas as comprovações científicas, alguns dermatologistas vêm prescrevendo seu uso, demonstrando a importância de trabalhos científicos com esta substância. Tadini (2005) observou que formulações contendo DMAE provocaram aumento significativo da espessura da derme sugerindo que o mecanismo de ação do DMAE pode estar relacionado com efeitos nesta camada. Porém, mediu apenas a espessura, o que não representa fielmente o grau de organização, bem como a quantidade das fibras colágenas. Além disso, usou como modelo experimental pele de rato que não é semelhante a de humanos.

#### 5. Considerações Finais

A formulação contendo DMAE pidolato mantém a epiderme bem como a camada córnea mais espessas, provavelmente pela hidratação que ele confere. Nenhuma das formulações utilizadas, F1- DMAE acetoamidobenzoato e F2-DMAE pidolato provocou irritação na derme mas a F1 provocou descamação da camada córnea. Com não foram observadas diferenças na quantidade do colágeno da derme pode-se concluir que neste modelo experimental o DMAE não provocou efeito tensor.

## Referências Bibliográficas

---

BRONAUGH, R. L. Determination of percutaneous absorption by *In Vitro* techniques. In: BRONAUGH, R. L., MAIBACH, H. I. HHH Percutaneous Absorption; Mechanism – Methodology – Drug Delivery. 2.ed. revised and expanded. New York: Marcel Dekker, 1989. p.239-255.

BRONAUGH, R. L., STEWART, R. F., CONGDON, E. R. Methods for *In Vitro* percutaneous absorption studies. II. Animal models for human skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*,62: 481-488, 1982.

GALENA. Notícias Galena. Ed.139, p.20-22, set/out 2006.

GIANNOCCARO, F.B.; GRAGNANI FILHO, A.; FERREIRA, L.M. Cultivo de fibroblastos com DMAE. *Cosmetics & Toiletries*, 19(1): 59-61, 2007.

LEONARDI, G.R.; ANDRIGO, F.; POLACOW, M.L.O.; FORNASARI, C.; PIRES-DE CAMPOS, M.S.M.; MONTEBELO, M.I.; PICIRILI, C. A.D.; Avaliação de eficácia de emulsão de silicone em rugas periorbitais e nasolabiais. *Cosmetics & Toiletries*, 19(3): 128-129, 2007.

MARTIN, A. *Physical pharmacy*. 4 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1993. p.153-476.

SILVA, G. M.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Histopathological morphometric and stereological studies of ascorbic acid and magnesium ascorbyl phosphate in a skin care formulation. *Int. J.Cosmet. Sci.*, Oxford, 22: 169-179, 2000.

TADINI, K. A. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de formulações dermocosméticas contendo

dimetilaminoetanol (DMAE). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (148 p), 2005.

UHODA, I.; FASKA, N.; ROBERT, C.; CAUWENBERGH, G.; PIÉRARD, G.E. Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. *Skin Research and Technology*. 8:164-167, 2002.

VIDAL, B.C. Image analysis of tendon helical superstructure using interference and polarized light microscopy. *Micron*, 34: 423-432, 2003.

## Anexos

Tabela 1 – Formulações escolhidas após testes preliminares de estabilidade, viscosidade e estabilidade física.

Formulações	Composição
F1	80% DCLC silicone Blend, 3% DMAE acetoamidobenzoato, água destilada q.s.p. 10g;
F2	80% DCLC silicone Blend, 3% DMAE picolato, água destilada q.s.p. 10g

Tabela 2 – Média e Desvio Padrão da espessura da Camada córnea ( $\mu\text{m}$ ) e da Epiderme ( $\mu\text{m}$ ) dos grupos experimentais, Controle, Silicone, Silicone + DMAE acetoamidobenzoato (F1) e Silicone + DMAE picolato (F2).

Grupos	Camada Córnea		Epiderme	
	Médias	Desv. Padrão	Médias	Desv. Padrão
Controle	19,02 ab	1,81	66,77 a	1,99
Silicone	22,52 a	4,31	71,26 a	2,36
F1	15,80 b	1,55	88,45 b	6,13
F2	34,30 c	5,63	96,28 b	5,46

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si e médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 3- Média e Desvio Padrão das áreas birrefringentes ( $\mu\text{m}^2$ ) dos grupos experimentais Controle, Silicone, Silicone + DMAE acetoamidobenzoato (F1) e Silicone + DMAE picolato (F2).

<b>Grupos</b>	<b>Médias</b>	<b>Desvios Padrão</b>
Controle	8286,62 a	525,96
Silicone	8918,43 a	404,68
F1	8048,74 a	847,06
F2	7512,81 a	761,40

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si e médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).