

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

VICTOR HUGO PACAGNELLI INFANTE

Pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino com óleos essenciais: caracterização da pele, eficácia clínica, perfil de consumo e influência da publicidade

Ribeirão Preto

2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino com óleos essenciais: caracterização da pele, eficácia clínica, perfil de consumo e influência da publicidade

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Patrícia M.B.G. Maia Campos

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Em 29/04./20201. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2021

LOMBADA

PACAGNELLI INFANTE, V. H.	PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS COSMÉTICOS PARA O PÚBLICO MASCULINO COM ÓLEOS ESSENCIAIS: CARACTERIZAÇÃO DA PELE, EFICÁCIA CLÍNICA, PERFIL DE CONSUMO E INFLUÊNCIA DA PUBLICIDADE	Espaço de 2,5 cm reservado para etiqueta de localização da biblioteca	DOUTORADO FCFRPUSP 2021
------------------------------	--	---	--

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Pacagnelli Infante, Victor Hugo

Pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino com óleos essenciais: caracterização da pele, eficácia clínica, perfil de consumo e influência da publicidade. Ribeirão Preto, 2021. 235 p.; 30 cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Maia Campos, Patrícia Maria Berardo Gonçalves

1. Cosmetologia. 2. Eficácia Clínica. 3. Pele masculina.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Victor Hugo Pacagnelli Infante

Pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino com óleos essenciais: caracterização da pele, eficácia clínica, perfil de consumo e influência da publicidade

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Há várias pessoas que merecem a dedicatória desse trabalho, mas sem sombra de dúvidas eu o dedico à minha família, meus amigos, aos supervisores do intercâmbio, aos seguidores do Oil Free e especialmente ao Jürgen Senger por estar sempre ao meu lado, me incentivando ao crescimento enquanto pesquisador e me apoiando na realização de todos os meus objetivos, mostrando a importância de palavras como companheirismo e amor. Ich liebe dich mein Schatz.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Esse trabalho merece dois agradecimentos especiais:

À minha falecida avó Dona Catarina Molina Pacagnelli, sinônimo de força e compaixão. Sempre pronta para receber-me com um grande abraço e um bonito sorriso no rosto, contando suas aventuras e despertando a minha curiosidade para o mundo ainda enquanto criança. Lembro-me de que no dia de seu falecimento também recebi a notícia do intercâmbio e alguns meses antes ela havia me dito que sonhara comigo viajando para muito longe em um lugar frio e que seria muito feliz com essa escolha. Tenho certeza de que viajamos juntos e estamos até hoje conectados por essa força oriunda do amor que me forneceu durante todos esses anos.

À minha orientadora Patrícia M. B. G. Maia Campos. Com certeza há várias palavras que poderiam ser utilizadas para descrevê-la, porém o que mais me tocou foi o aprendizado em como ser uma pessoa melhor. Admiro seu dinamismo, eloquência, poder de síntese e por conseguir pensar a Universidade além dos muros que a cerca. Agradeço pelas oportunidades que me proporcionou e posso dizer que fazer esse doutorado mudou a minha vida em vários aspectos, tendo conseguido chegar em lugares nunca sonhados.

AGRADECIMENTOS

À minha família (Lauro Infante, Jussara Infante, Tia Amélia, André, Tio Bernardino) por todo o apoio incondicional.

À minha irmã Ana Paula por, desde sempre, apoiar meu processo de crescimento pessoal, humano e intelectual, sendo um exemplo de dedicação e empenho em tudo aquilo que se propõe a fazer.

À Meire Pereira da Silva Santos, por todo o apoio, carinho e amizade desde criança.

À toda minha família na Espanha, com destaque à minha prima Mar Infantes Barroso, por me receberem e sempre me tratarem com todo o carinho e respeito.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado nos dois primeiros meses. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

À FAPESP, pela concessão de bolsa e apoio inegável durante todo o projeto de doutorado (2016/13705-0), bem como a realização do estágio no exterior (2019/12452-0). Nesse momento, mais do que nunca, a ciência precisa ser nosso guia e as agências de fomento são sinônimo de transparência e lucidez.

A todos os amigos feitos no NEATEC (Letícia Kakuda, Rodolfo, Marcella, Marina, Júlia, Raíssa, Daiane, Tais, Thais, Carla, Cláudia, Francine, Jéssica, Letícia N., Ana Paula, Gabriela, Elisa, Gabriel, Vitória, Marina S., Ivelise, Luis) pelo companheirismo, aprendizados, aventuras e ajuda em todos os momentos. Vou levar vocês comigo para sempre.

Agradecimento às amigas de laboratório Lívia, Maisa e Júlia pela ajuda em vários trabalhos de pesquisa e confecção de publicações.

Aos meus amigos pessoais de Riberão (RIBEIRÃO) Preto (Camila, Bruno T., Bruno F., Raissa, Precy, Michelle, Matheus, Maisa, Isabela P., Mariana Zapolla, Rosi, Mariana Cunha, Cris Duarte, Guilherme, Júlia, Lívia, Saulo, Patrícia P., Tahiana) por todo apoio ao longo do desenvolvimento desse trabalho e em todos os outros momentos.

Aos meus amigos pessoais de Presidente Prudente (Carol, Ariane, Bárbara, Milena, Melina, Vanessa, Livia, Karen, Fernando, Maristela, Paula, Carol e Heloisa) por toda a longa jornada de amizade.

Aos meus amigos de faculdade (Taise Fukuda, Flávia Mattioli, Natália Doretto, Charlotte, Brenda, Mari Terin, Rafael Paulino, Letícia, Raíssa, Laura Ióca e Thaís Plepis) por todo apoio ao longo do desenvolvimento desse trabalho e em todos os outros momentos.

Ao Carlos e ao Luis por todo suporte emocional e incentivo ao longo do curso.

A todos do NEATEC que apoiaram e colaboraram com o meu trabalho.

A todos os participantes do estudo clínico, sem eles o trabalho não seria possível.

Às empresas Galena, Silab, Croda e Mapric que gentilmente forneceram matérias-primas utilizadas neste trabalho.

Às empresas Allergisa e ChemyUnion por conduzirem os estudos de FPS *in vivo* e *in vitro* respectivamente.

À Prof^a. Ana Lúcia da Costa Darini e ao Prof. Leonardo Andrade, professores do departamento de análises clínicas, por terem me iniciado na carreira acadêmica e por serem, até hoje, inspiração de dedicação e ética. Agradeço também os amigos de laboratório Dra. Renata, Dra. Natália, Dra. Carol, Dra. Josy, Rubinho, Ms. Ludmila e Dra. Anelise.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – docentes, discentes e servidores, pela oportunidade e apoio para este trabalho.

À Charité Universitätsmedizin – Berlin, pela oportunidade e apoio para este trabalho.

Às funcionárias Eleni e Rosana por sempre auxiliarem nos processos administrativos.

Às Prof^{as} Ediléia Bagatin e Lorena Gaspar por auxiliarem na pesquisa. Agradeço também a funcionária Karina que auxiliou em etapas da pesquisa e no programa PAE.

Aos Professores Martina C. Meinke e Jürgen Lademann por terem me recebido na Charité, lapidando ainda mais meu conhecimento científico e reacendendo minha paixão por ciência.

Aos pesquisadores Dr. Darwin, Dr. Lohan, Dr. Schleusener, Sabine, Heike e Dr. Marius por todo o apoio nos trabalhos conduzidos na Charité.

Aos amigos de laboratório Anna Lena e Loris por todo o suporte e amizade durante minha estadia na Alemanha.

Aos amigos da Alemanha Klaus Hehner, Julian, Marcel, Matthias, Lilo, Basti, Erik e Markus por terem me recebidos tantas vezes e por todos os momentos únicos compartilhados.

Aos amigos e colegas Bianca, Juliana, Camila, Otávio, Joyce Kitamura, Guilherme Muzy, Marta, Juliana, Pedro, Impera, Janaína, entre vários outros criadores de conteúdo para a internet por serem sempre um apoio e darem visibilidade para meu trabalho.

Ao Dr. João Carlos Lopes Simão pelo suporte no comitê de ética.

“Se antes de cada ato nosso nos puséssemos a prever todas as consequências dele, a pensar nelas a sério, primeiro as imediatas, depois as prováveis, depois as possíveis, depois as imagináveis, não chegaríamos sequer a mover-nos de onde o primeiro pensamento nos tivesse feito parar. Os bons e os maus resultados dos nosso ditos e obras vão-se distribuindo, supõe-se que de uma forma bastante uniforme e equilibrada, por todos os dias do futuro, incluindo aqueles, infindáveis, em que já cá não estaremos para poder comprová-lo, para congratular-nos ou pedir perdão, aliás, há quem diga que isso é que é a imortalidade de que tanto se fala.”

(José Saramago)

RESUMO

INFANTE, V.H.P. **Pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino com óleos essenciais: caracterização da pele, eficácia clínica, perfil de consumo e influência da publicidade.** 2021. 235 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

O presente estudo apresenta-se de forma interdisciplinar, dividido por capítulos, com os objetivos: a) conhecer o mercado consumidor masculino e os seus hábitos de vida, estudar a influência do marketing na aceitação de produtos eficazes; b) estudar a composição e segurança de óleos essenciais e nanoemulsão; c) desenvolver e avaliar a estabilidade de formulações cosméticas contendo óleos essenciais e fotoprotetores; d) caracterizar a pele masculina oleosa com tendência à acne e fotoenvelhecida, além de avaliar a eficácia clínica das formulações com óleos essenciais. Métodos: Para o estudo do comportamento do consumidor foi desenvolvido e validado um questionário sendo aplicado de forma on-line. Essa etapa foi guia para o desenvolvimento de cosméticos, sobre a representação do homem na mídia e na escolha dos óleos essenciais. O perfil de segurança e composição dos óleos essenciais de melaleuca, lavanda, tangerina e eucalipto, além de nanoemulsão de melaleuca foram avaliados por meio de métodos *in vitro* e *ex vivo*. Uma vez avaliadas as substâncias ativas a serem utilizadas, partimos para a etapa de desenvolvimento de formulações cosméticas, onde desenvolvemos uma base cosmética com amidos de milho e tapioca. Essa base foi aplicada no desenvolvimento de formulações fotoprotetoras e de cosméticos com óleos essenciais. Todas as formulações tiveram seu perfil de textura e reologia avaliados, bem como estabilidade em longo prazo. As formulações fotoprotetoras foram estudadas para entender como a textura e reologia estão relacionadas com o FPS e proteção na luz visível. A partir de todos esses conhecimentos, avaliamos a pele masculina jovem (entre 18 e 28 anos), oleosa com tendência à formação de comedões e fotoenvelhecida. Os participantes foram recrutados para entrevistas presenciais e caracterização da pele por meio de técnicas de biofísica e imagem da pele. Todos foram questionados quanto ao uso de cosméticos. Na etapa referente à pesquisa clínica de eficácia dos óleos essenciais, 66 participantes do sexo masculino foram recrutados e divididos em 5 grupos em um estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controle. Como resultado, encontramos um distanciamento entre o homem brasileiro e os produtos cosméticos de cuidados com a pele, com certa resistência ao uso de protetor solar com frequência. Dessa forma, nos estudos de caracterização observamos um processo de fotoenvelhecimento precoce e de pele oleosa com alta densidade de comedões. Os óleos essenciais apresentaram boa segurança, apenas o de tangerina apresentou uma alta penetração através do estrato córneo e citotoxicidade dependente de sua concentração. Dessa forma, o estudo clínico foi proposto com proporções iguais dos óleos essenciais, a fim de reduzir a proporção desse óleo e contornar os problemas de segurança encontrados. Os protetores desenvolvidos apresentaram interessante relação entre as características físico-mecânicas e uma melhor performance no FPS e proteção da luz visível. A combinação de uso de fotoprotetor e formulação noturna com óleos essenciais apresentou resultados clínicos satisfatórios. A combinação dos quatro óleos em igual proporção apresentou melhora da barreira da pele e os grupos de melaleuca e nanoemulsão de melaleuca melhoraram as características morfológicas e estruturais da pele masculina jovem. O uso de cosméticos impactou positivamente os homens, mostrando que esse é um público aberto ao setor cosmético, mas que ainda encontra algumas barreiras associadas ao seu uso.

Palavras-chave: cosméticos; óleos essenciais; pele masculina; fotoenvelhecimento; fotoproteção; microscopia confocal de reflectância a laser

ABSTRACT

INFANTE, V.H.P. **Research and development of cosmetic products for the male public with essential oil: skin characterization, clinical efficacy, consume profile and advertising influences.** 2021. 235 p. Thesis (Doctorate). School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2021.

The present study is presented in an interdisciplinary approach, divided by chapters, with the objectives: a) to know the male consumer market and their life habits, to study the influence of marketing on the acceptance of effective cosmetic products; b) to study the composition and safety of essential oils and nanoemulsion; c) to develop and evaluate the stability of cosmetic formulations containing essential oils and sunscreens; d) to characterize oily photoaged male skin prone to comedone formation, in addition to assessing the clinical effectiveness of formulations with essential oils. Methods: For the study of consumer behavior, a questionnaire was developed, validated and applied online. This step was a guide for the development of cosmetics, besides the representation of men in the media and in the choice of essential oils. The safety profile and composition of essential oils of tea tree, lavender, tangerine and eucalyptus, as well as tea tree nanoemulsion were evaluated using *in vitro* and *ex vivo* methods. Once the active substances to be used have been evaluated, we move on to the stage of developing cosmetic formulations, where we developed a cosmetic base with corn and tapioca starches. This base was applied in the development of sunscreens and cosmetic formulations with essential oils. All formulations had their texture and rheology profile evaluated, as well as long-term stability. The sunscreen formulations were also studied to understand how texture and rheology are related to SPF and protection in visible light. Having all this prior knowledge, we evaluated the oily and photoaged young male skin (between 18 and 28 years old). Participants were recruited for face-to-face interviews and skin characterization using biophysical and skin imaging techniques. All participants were interrogated regarding the use of cosmetics. In the stage related to the clinical research for the efficacy of essential oils evaluation, 66 male participants were recruited and divided into 5 groups in a randomized, double-blind, placebo-control study. As a result, we found a gap between Brazilian men and cosmetic skin care products, with some resistance to the use of sunscreen frequently. Thus, in the characterization studies, we observed a process of early photoaging and oily skin with a high density of comedones. Essential oils showed good safety, only tangerine showed high penetration through the *stratum corneum* and cytotoxicity dependent on its concentration. Thus, the clinical study was proposed with equal proportions of essential oils, to reduce the proportion of this oil and circumvent the safety problems encountered. The developed sunscreen formulations showed an interesting relationship between the physical-mechanical characteristics and a better performance in the SPF and protection from visible light. The combination of the use of daily sunscreen application and nocturnal formulation with essential oils showed satisfactory clinical results. The combination of the four oils in an equal proportion showed improvement of the skin barrier and the groups using tea tree and tea tree nanoemulsion improved the morphological and structural characteristics of the young male skin. The use of cosmetics had a positive impact on men, showing that this is an audience that is open to the cosmetic sector, but still encounters some barriers associated with its use.

Keywords: cosmetics, essential oils, photoaging, male skin, photoprotection, reflectance confocal microscopy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática das camadas da epiderme	11
Figura 2. Correlação de Spearman entre as afirmações do estudo com coeficiente de variação menor que 50%. Os valores destacados em branco revelam as melhores tendências de correlação.....	61
Figura 3. Frequência média \pm SD de exposição a produtos cosméticos. As faixas horizontais determinam os níveis de exposição (baixo, médio e alto) de acordo com a frequência de uso dos produtos cosméticos.....	64
Figura 4. Espectro de Raman dos óleos essenciais melaleuca (A) e lavanda (B) e seus principais constituintes. Os círculos coloridos nos espectros representam os picos que são associados ao terpeno assinalado ou à região de presença de densidade de CH ₂ /CH ₃	80
Figura 5. : Espectro de Raman dos óleos essenciais eucalipto (A) e tangerina (B) e seus principais constituintes. Os círculos coloridos nos espectros representam os picos que são associados ao terpeno assinalado ou à região de presença de densidade de CH ₂ /CH ₃	81
Figura 6. Espectro de Raman do óleo essencial de melaleuca (curva em preto) e da nanoemulsão, curva em verde.....	82
Figura 7. Perfil de penetração da combinação ou não de óleos essenciais aplicados topicamente em pele intacta de suínos por 30 min medido por CRM (n = 6, valores médios \pm desvio padrão).....	84
Figura 8. Perfil de penetração da nanoemulsão e óleo essencial de melaleuca aplicados topicamente em pele intacta de orelha de porco por 30 min medido por CRM (n = 6, valores médios \pm desvio padrão), onde (***) significa p<0,001 comparando com o óleo de melaleuca puro.....	85
Figura 9. Esquema do desenvolvimento de formulações durante o projeto de doutorado. Cada cor representa uma diferente etapa no processo de desenvolvimento de formulações.....	91
Figura 10. Comportamento reológico das formulações na etapa de desenvolvimento inicial onde é possível observar que as curvas representadas as formulações C (tapioca);	

F (milho) e I (ambas) apresentaram a caracterização mais compatível para produtos cosméticos.....	105
Figura 11. Gráficos fatoriais de efeitos principais das concentrações dos Polissacarídeos e da Glicerina sobre a resposta “work of shear”.....	107
Figura 12. Comportamento reológico da formulação com amidos de milho e tapioca com a melhor resposta no ensaio fatorial e submetidos à ensaios de estabilidade nas temperaturas ambiente, 37 ° C e 45 ° C.....	107
Figura 13. Avaliação das características sensoriais das formulações à base dos polímeros HEC e AAVC-P.....	108
Figura 14. Comportamento reológico da formulação formadora de filme (Filme) em comparação com a formulação à base de amidos (26) em relação ao tempo inicial de formulação.....	109
Figura 15. Micrografias sob a luz polarizada da formulação de amido, sendo possível observar a formação de indicativos de fase lamelar. No fundo é possível observar os grânulos de amido dispersos (a barra de escala corresponde a 100 µm).....	110
Figura 16. Comportamento reológico da formulação formadora de filme (Filme) em comparação com a formulação à base de amidos (26).....	110
Figura 17. Perda transepidérmica de água (TEWL) para as regiões controle e de aplicação da formulação formadora de filme. Onde (***) é relativo à significância do teste ANOVA entre os tempos e regiões, sendo significativo em comparação com o controle. Tempo em minutos.....	111
Figura 18. Imagens de MCR do estrato córneo da região controle (A) e da aplicação da formulação formadora de filme (B e C). As setas azuis indicam a deposição de formulação na superfície do estrato córneo e a seta amarela a deposição da formulação nos sulcos do estrato.....	111
Figura 19. Reogramas das formulações F1 (esquerda) e F2 (direita) para as temperaturas ambiente (A), 37° (B) e 45°C (C) respectivamente.....	113

Figura 20. Imagens TPT/FLIM das formulações F1 e F2 respectivamente onde é possível observar uma melhor distribuição da formulação F2 na superfície de vidro quando comparada à formulação F2. Adaptado de Infante et al, 2021 ^a	114
Figura 21. Imagens representativas obtidas por MCR de cada formulação de protetor solar quando aplicada na superfície da pele em profundidades diferentes. A seta azul indica a interação da formulação F2 com a pele.....	115
Figura 22. Valores de rugosidade da pele (Sa) obtidos ex vivo para cada formulação; (*) significa diferença significativa ($p<0,05$); (**) diferença significativa ($p=0.002$) e (***) diferença significativa ($p<0.001$).....	116
Figura 23 Propriedades ópticas das formulações fotoprotetoras (reflectância e transmitância) (Média±SEM).....	118
Figura 24. Coeficiente de espalhamento efetivo μ_s' para F1 e F2 na região VIS/NIR de 400 nm a 800 nm (média ± SEM). Adaptado de Infante et al. 2021c.....	119
Figura 25. Produção cumulativa de radicais para as formulações F1, F2 e pele não tratada após 15 minutos de exposição à luz visível (Média ± SD). Adaptado de Infante et al. 2021c.....	119
Figura 26. Formação de radical conforme o tempo para F1, F2, pele não tratada nos tempos de 5, 10 e 15 minutos. As diferenças entre cada amostra em cada tempo, em que * significa um valor de p entre 0,05 e 0,01; (**) significa um valor de p entre 0,01 e 0,001 e (***) significa um valor de p inferior a 0,001. Adaptado de Infante et al. 2021c.....	120
Figura 27. Respostas do planejamento fatorial 3^3 para o parâmetro de índice de viscosidade da formulação veículo desenvolvida para o estudo clínico. A imagem à esquerda analisa as influências de cada uma das variáveis isoladamente e na segunda a influência da combinação.....	122
Figura 28. Reogramas das formulações em estudo após 24 horas de sua preparação.....	122
Figura 29. : Região do folículo e regiões selecionadas para a análise do MCR. Adaptado de Lademann et al. 2015.....	144
Figura 30. Imagens representativas da área e número aproximado de queratinócitos na cada granulosa - microscopia confocal de reflectância a laser e o software Image J.....	149

- Figura 31.** Caracterização hidrolipídica da pele da região frontal facial de acordo com o hábito de fotoproteção. A TEWL, conteúdo aquoso do estrato córneo, conteúdo lipídico da superfície da pele e sebo infundibular são apresentados nesta figura explicando as diferenças nestes parâmetros de acordo com o hábito. (*) significa $0,05 < p < 0,01$; (**) $0,01 < p < 0,001$ e (***) $p < 0,001$ 153
- Figura 32.** Poros totais de acordo com hábitos e regiões faciais, onde (*) significa $p < 0,05$ 153
- Figura 33.** Classificação de ecogenicidade no estudo. (A) é normal, (B) é uma ecogenicidade reduzida, com baixos pixels hiperecogênicos em toda a derme, (C) é uma ecogenicidade ausente com a prevalência de pixels hipocogênicos e (D) é uma derme com processo de formação da faixa subecogênica (seta vermelha) 154
- Figura 34.** Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento no estrato córneo, onde a melhor qualidade significa uma forma rombóide, com pouco espaço entre os sulcos, textura uniforme e alto brilho. Quanto maior a nota atribuída ao critério, maior a qualidade. A parte superior diz respeito ao brilho e a inferior à textura..... 158
- Figura 35.** Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento no estrato granuloso, onde a melhor qualidade significa uma forma favo-de-mel, com alto brilho interqueratinócitos, sem comedões e com células bem definidas. Quanto maior a nota atribuída ao critério, maior a qualidade. A parte superior diz respeito ao padrão favo-de-mel e a inferior à formação de comedões 159
- Figura 36.** Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento na junção derme-epiderme, onde a melhor qualidade significa uma alta densidade de papilas, bem definidas e com formas arredondadas. A perda de qualidade das papilas faz com que fiquem em forma de gota, achatadas até chegar à forma de papila policíclica. Quanto maior a nota atribuída ao critério, maior a qualidade. Imagens acima - densidade das papilas; abaixo - alteração no padrão morfológico das papilas..... 160
- Figura 37.** .Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento do colágeno na derme superior, onde a melhor qualidade significa fibras bem definidas, retas, não amontoadas e com alta reflectância. A perda de qualidade do colágeno faz

com que fique hiporrefletivo e perda qualidade da forma da fibra, podendo-se notar elastose como na primeira imagem superior. qualidade e a inferior à densidade

Figura 38. Análise PCA da aplicação de pontuação em relação à idade e hábitos de fotoproteção. A região A representa os participantes mais velhos sem hábitos de fotoproteção, a região B diz respeito aos participantes, independentemente da idade, com hábitos de fotoproteção e as regiões C correspondem aos participantes mais jovens sem hábitos de fotoproteção 164

Figura 39. Casos de melasma encontrados na caracterização dos participantes do estudo. Os círculos azuis representam os aglomerados de pigmentação, bem como de infiltrado inflamatório pela MCR. As setas azuis indicam papilas policíclicas e as setas vermelhas indicam papilas que estão em processo de perda de forma 165

Figura 40. Pontuação dos comedões pela análise do micro relevo cutâneo (VisioScan®), onde 1 significa menor quantidade e 5 maior densidade de comedões..... 166

Figura 41. Avaliação do eritema (A) na região malar e utilização de escore de avaliação do eritema (B) de acordo com imagens de alta resolução entre os grupos sem hábitos de proteção solar (SFP) e o grupo com hábitos de proteção solar (FP). Onde (**) significa $0,001 < p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ 166

Figura 42. Score de micro relevo para a avaliação de comedões de acordo com a região e a distribuição. (**) significa $0,001 < p < 0,05$ 168

Figura 43. Imagens de MCR para comedões causados por presença de ácaros (A,C) ou por acúmulo de material amorfo (B,D) nas camadas estrato córneo (A,B) e estrato espinhoso (C,D). A seta azul indica os círculos bem delimitados que representam os ácaros e a seta laranja aponta a hiperqueratinização do folículo..... 169

Figura 44. Áreas foliculares de acordo com as regiões e o tipo de comedão, onde EC significa estrato córneo, estrato granuloso EG e derme superior DS. (***) representa $p < 0,001$. # representa uma diferença significativa entre as áreas de lesão dismórfica e todos os outros resultados apresentados no gráfico..... 170

Figura 45. Representação esquemática do folículo saudável e dos comedões analisados neste estudo. A imagem gráfica é representativa de acordo com os valores proporcionais obtidos nas relações entre EC, EG e DS. É possível observar que o processo de hiperqueratinização representado pelo comedão de contorno grosso é capaz de aumentar

a área folicular proporcionalmente, mas quando se torna dismórfico, essa razão não é mantida.....	171
Figura 46. Escore de eritema de acordo com os participantes do estudo clínico.....	172
Figura 47. Avaliação do eritema (A) na região malar e utilização de escore de avaliação do eritema (B) de acordo com imagens de alta resolução entre os grupos sem hábitos de proteção solar (SFP) e o grupo com hábitos de proteção solar (FP). Onde (**) significa $0,001 < p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$	173
Figura 48. Participante do estudo clínico que alegou não utilizar fotoprotetor regularmente no início do estudo (T0) e após 15 dias de aplicação de protetor solar diariamente (T15). É possível notar a redução de eritema em toda a face, especialmente na região malar.....	173
Figura 49. Parâmetros de hidratação da pele (B) e TEWL (A) de diferentes grupos e tempos de tratamento (em dias), onde é possível observar que a formulação com quatro óleos essenciais (4OE) apresentou a principal melhora na TEWL e na hidratação do estrato córneo; onde (*) $0,01 < p < 0,05$	174
Figura 50. Nível de sebo superficial (A) e conteúdo de sebo do infundíbulo (B), de diferentes grupos de tratamento e tempos (em dias); onde (***) $p < 0,001$ e # uma tendência na redução com $p = 0,07$ comparando com o tempo inicial.....	175
Figura 51. Ecogenicidade da derme com a relação entre pixels de baixa ecogenicidade e pixels totais para os grupos de estudo de acordo com o tempo (em dia), onde (*) significa $p < 0,05$	175
Figura 52. Resultados referentes à espessura das diferentes camadas da epiderme utilizando MCR. O uso de nanoemulsão reduziu a espessura do estrato córneo (A) e aumentou a profundidade das papilas (B). O uso de 3 óleos em combinação reduziu a espessura da epiderme e o uso de óleo de melaleuca puro aumentou a profundidade das papilas e a espessura da epiderme média (C). Onde (*) $0,01 < p < 0,05$; (**) $0,001 < p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$	176
Figura 53. Área dos queratinócitos (A) e número médio de células (B) da camada granulosa para os grupos que utilizaram óleo de melaleuca, nanoemulsão e veículo. Onde (*) $0,01 < p < 0,05$; (**) $0,001 < p < 0,01$	177

Figura 54. Escore de micro relevo e número de lesões por imagem de dermatoscopia de acordo com cada tratamento e com o tempo de uso (T0 x T90) em dias. Onde (*) significa $p < 0,05$; (**) $0,001 < p < 0,05$ e (***) $p < 0,001$ 177

Figura 55. Áreas dos comedões de acordo com as regiões de estudo, estrato córneo (EC), estrato granuloso (EG) e derme superior (DS) antes e após o tratamento. Onde (*) significa $p < 0,05$; (***) $p < 0,001$ e # uma tendência com $p = 0,056$ 178

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação de acordo com a quantidade de cosméticos que o participante utiliza	54
Tabela 2 – Distribuição das respostas coletadas na pesquisa com o público jovem masculino.....	59
Tabela 3 – Resultados da pesquisa de uso de cosméticos com base em questionário on-line referente às duas primeiras questões. É apresentada a frequência absoluta de cada pontuação e parâmetros, bem como a média.....	62
Tabela 4 – Resultados da pesquisa de uso de cosméticos com base em questionário on-line referente à terceira questão. É apresentada a frequência absoluta de cada pontuação e parâmetros, bem como a média.....	63
Tabela 5 – Resultados da pesquisa de uso de cosméticos com base em questionário on-line referente à quarta questão. É apresentada a frequência absoluta de cada pontuação e parâmetros, bem como a média.....	63
Tabela 6 – Frequência de uso de cosmético (Média±DP) de acordo com a categoria, via de exposição segundo os participantes deste estudo.....	65
Tabela 7 – Ensaio de fototoxicidade em fibroblastos 3T3 de óleos essenciais, suas associações e formas farmacêuticas (n = 2).....	83
Tabela 8 – Caracterização da nanoemulsão utilizada neste estudo de acordo com tamanho, PDI, potencial zeta e fator de proteção de radicais livres in tubo.....	85
Tabela 9 – Formulações desenvolvidas para o estudo preliminar de estabilidade e viabilidade de utilização dos amidos.....	93
Tabela 10 – Desenho dos parâmetros para o ensaio fatorial da base de amidos.....	94
Tabela 11 – Formulações desenvolvidas para o design fatorial da base cosmética utilizando amidos de milho e tapioca.....	95
Tabela 12 – Formulações de fotoprotetores desenvolvidos nesse estudo. As diferenças entre as formulações estão apresentadas em destaque nas composições.....	98

Tabela 13 – Formulações desenvolvidas para o estudo de eficácia clínica.....	104
Tabela 14 – Área de histerese das formulações F1 e F2 em 24h, 7, 14, 21 e 28 dias após o desenvolvimento (R1) e à temperatura ambiente 37 ° C (R2) e 45 ° C (R3). NM - não medido.....	112
Tabela 15 – Dados de perfil de penetração de formulações F1 e F2 das fitas removidas sucessivamente pela metodologia de tape stripping.....	117
Tabela 16 – FPS, fator de proteção de radicais livres (FPRL), coeficiente de espalhamento ($\mu s'$) e coeficiente de absorção (μa) - ambos a 460 nm referente à luz azul - de acordo com a formulação do fotoprotetor.....	118
Tabela 17 – Variáveis da equação de correlação para o design estatístico 3 ³ para a formulação do estudo clínico.....	121
Tabela 18 – Simplificação das etapas de estudos envolvendo voluntários. Nem todos os participantes da parte de caracterização da pele participaram das fases de wash-out e eficácia clínica.....	139
Tabela 19 – Características dos participantes jovens do estudo de caracterização	152
Tabela 20 – Resultados de acordo com os 25 participantes jovens que participaram da caracterização com MCR	155
Tabela 21 – Informação sobre características da pele dos participantes do estudo e os resultados obtidos na avaliação visual por médico e refletância confocal análise de imagem microscópica	156
Tabela 22 – Escore médio obtido das imagens de MCR aplicado aos participantes do estudo na etapa de caracterização (jovens e adultos)	162
Tabela 23 - Número absoluto de tipos de lesões de acordo com a região facial	167
Tabela 24 – Avaliação das características morfológicas e estruturais das lesões de acne não-inflamatória de acordo com os grupos de tratamento e o tempo. Os resultados são apresentados em valores relativos ao total (porcentagem)	179
Tabela 25 – Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para o estrato córneo de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)	180

Tabela 26 – Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para o estrato granuloso de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)	181
Tabela 27 – Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para a junção derme-epiderme de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)	181
Tabela 28 - Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para o colágeno de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)	182

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TEWL	Perda Transepidérmica de Água
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
RCM	Microscopia Confocal de Reflectância a laser
MCR	Microscopia Confocal de Reflectância
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazila
EPR	Eletroparamagnético
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
BHT	Butylhydroxytoluene
FPRL	Fator de Proteção de Radicais Livres
HEC	hidroxietilcelulose
PCA	3-carboxy-2,2,5,5-tetramethyl-1-pyrrolidinyloxy
AAVC-P	Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer
EC	Estrato córneo
EG	Estrato granuloso
JDE	Junção derme-epiderme
DS	Derme superior
NIR	Infravermelho curto
VIS	Radiação de luz visível
UV	Radiação Ultravioleta
IR	Radiação infravermelho
FPS	Fator de proteção solar

TPT/FLIM	Tomografia de dois fótons com imagem de fluorescência
μ_a	Coefficiente de absorvância
μ_s'	Coefficiente de espalhamento
Rt	Reflectância total
Tt	Transmitância total
rpm	Rotações por minuto
iMCS	Simulação Monte Carlo

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de figuras	iii
Lista de tabelas	x
Lista de abreviaturas e siglas	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1 A pele, suas camadas e suas características	8
2.2 Técnicas de biofísica e imagem para avaliação da pele	13
2.3. Diferenças biofísicas, morfológicas e estruturais entre a pele masculina e feminina	17
2.4. As normas de masculinidade, o comportamento do homem, o uso de cosméticos e os impactos na saúde da pele	20
2.5. A segmentação dos produtos cosméticos e as definições de masculinidade	22
2.6. O consumo das diferentes categorias de produtos cosméticos pelos homens ao redor do globo	24
2.7. O estudo do consumo de cosméticos e a exposição a componentes químicos	26
2.8. O marketing, o consumo de cosméticos e o autocuidado masculino	27
2.9. O sensorial e as propriedades físico-mecânicas de cosméticos	29
2.10. Polímeros sintéticos, naturais e os amidos como modificadores reológicos de produtos cosméticos	30
2.11. A pele oleosa, a acne e o estudo de eficácia de produtos cosméticos no público masculino	32

2.12. A utilização de óleos essenciais em produtos cosméticos e sua segurança e eficácia	35
2.13. Metodologias <i>in vitro</i> , <i>ex vivo</i> e <i>in vivo</i> e o estudo de substâncias ativas utilizadas em cosméticos	39
2.14. O fotoenvelhecimento cutâneo e a utilização de protetor solar entre homens	40
2.15. A pesquisa e desenvolvimento de fotoprotetores	43
2.16. A atividade antioxidante, as propriedades ópticas de fotoprotetores e a proteção da luz visível e infravermelho	45
2.17. O perfil de permeação de substâncias ativas usando tape stripping e espectroscopia raman acoplada a microscopia confocal de reflectância a laser	45
3. OBJETIVO	47
4. MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1 Matérias Primas	50
4.2 Reagentes	50
4.3. Equipamentos e acessórios	50
	50
5. CAPÍTULO I: ESTUDO DO COMPORTAMENTO, HÁBITOS E EXPOSIÇÃO AOS PRODUTOS COSMÉTICOS	52
5.1 Estudo do comportamento, hábitos e exposição aos produtos cosméticos	
5.1.1. Questionário inicial	53
5.1.2 Pré-teste	53
5.1.3 Avaliação por profissionais	53
5.1.4. Questionário final	53
5.1.5. Amostra do estudo	54
5.1.6. Análise do consumo e exposição à componentes de formulações cosméticas	54
5.1.7. Motivações para o consumo de cosméticos	55
5.1.8. Influências culturais para o uso de cosméticos	55
5.1.9. Estudo da influência da publicidade	56

5.2. Resultados	57
5.2.1. Pré-teste	57
5.2.2. Validação por especialistas	58
5.2.3. Caracterização da população e influências sociais, culturais e econômicas no uso de cosméticos	59
5.2.4. Motivações, consumo e exposição a compostos químicos	61
5.2.5. Influência da publicidade	66
5.3. Discussão	66
6. CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DA NANOEMULSÃO DE MELALEUCA	74
6.1. Métodos	75
6.1.1. Seleção dos óleos essenciais	75
6.1.2. Determinação do fator de proteção de radicais livres in tubo	75
6.1.3. Avaliação da fototoxicidade e da citotoxicidade dos óleos essenciais em modelo in vitro	76
6.1.4. Modelo de pele ex vivo	76
6.1.5. Determinação dos fingerprints de óleos essenciais para a caracterização da amostra utilizando microespectroscopia Raman	76
6.1.6. Avaliação da penetração no estrato córneo utilizando modelo de pele ex vivo e raman acoplado a microscopia confocal	77
6.1.7. Avaliação da segurança e desempenho da nanoemulsão de óleo essencial de <i>M. alternifolia</i>	77
6.2. Resultados	78
6.2.1. Caracterização dos óleos essenciais utilizando microespectroscopia Raman	78
6.2.2. Predição de fototoxicidade e citotoxicidade em modelos in vitro	82
6.2.3. Perfil de penetração dos óleos essenciais através do estrato córneo utilizando microespectroscopia Raman	84
6.2.4. Perfil de segurança e desempenho da nanoemulsão de melaleuca	85
6.3. Resultados	85
7. CAPÍTULO III: DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS	89

7.1. Métodos

7.1.1. Desenvolvimento das formulações

7.1.2. Estabilidade acelerada

7.1.3. Comportamento reológico

7.1.4. Ensaios de textura e trabalho de espalhabilidade de formulações cosméticas

7.1.5. Desenvolvimento inicial de base cosmética utilizando amidos

7.1.6. Design fatorial 3^3 para a base cosmética com amidos

7.1.7. Comparação da base cosmética com outros polímeros

7.1.8. Desenvolvimento de formulação formadora de filme

7.1.9. Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras

7.1.10. FPS in vitro

7.1.11. Penetração dos filtros UV utilizando tape stripping

7.1.12. Perfilometria da superfície da pele

7.1.13. Tomografia de dois fótons com imagem de fluorescência (TPT/FLIM)

7.1.14. Espectroscopia de refletância difusa (ERD) para determinar a homogeneidade do protetor solar na pele

7.1.15. Proteção de radicais livres gerados pela luz visível em modelo de pele ex vivo

7.1.16. Propriedades ópticas de fotoprotetores e simulação Monte Carlo

7.1.17. Pesquisa e desenvolvimento de formulações com óleos essenciais

7.2. Resultados

7.2.1. Desenvolvimento inicial de base cosmética utilizando amidos

7.2.2. Desenvolvimento fatorial 3^3 para a base cosmética com amidos

7.2.3. Comparação da base cosmética com outros polímeros

7.2.4. Desenvolvimento e avaliação de formulação formadora de filme

7.2.5. Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras e avaliação de sua eficácia

7.2.6. Desenvolvimento de formulações cosméticas com óleos essenciais

7.3. Discussão

8. CAPÍTULO IV: CARACTERIZAÇÃO DA PELE E EFICÁCIA CLÍNICA

5.1. Casuística e delimitação dos estudos

8.1.1. Caracterização da pele masculina jovem, hábitos de fotoproteção e eficácia de produtos cosméticos à base de óleos essenciais	140
8.1.2. Caracterização de pele masculina madura, hábitos de fotoproteção e desenvolvimento de score clínico de imagens de MCR para avaliação do fotoenvelhecimento	141
8.1.3. Caracterização da pele masculina jovem oleosa com tendência à formação de comedões	142
8.2 Técnicas de biofísica e imagem da pele	146
8.2.1 Técnicas para avaliação dos parâmetros de hidratação e integridade da pele	146
8.2.1.1. Perda transepidérmica de água	146
8.2.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo	146
8.2.2 Técnicas para avaliação dos parâmetros de oleosidade da pele	146
8.2.2.1. Quantificação do sebo superficial da pele	146
8.2.2.2. Quantificação do sebo infundibular	147
8.2.3. Obtenção de imagens de alta resolução	147
8.2.4 Obtenção de imagens do micro relevo cutâneo	147
8.2.5 Ecogenicidade da derme	147
8.2.6 Mexameter® MX 16	148
8.2.7. Microscopia confocal de reflectância a laser	148
8.3 Análise Estatística	149
8.4. Resultados	150
8.4.1. Normas masculinas e utilização de fotoprotetores	150
8.4.2. Caracterização da pele masculina jovem fotoenvelhecida	151
8.4.3. Desenvolvimento de score com imagens de MCR para avaliação do fotoenvelhecimento	157
8.4.4. Avaliação da pele masculina jovem oleosa com tendência à comedões	166
8.4.5. Eficácia clínica	171
8.4.6. Percepção de eficácia e considerações sobre o uso de cosméticos	182
8.5. Discussão	183
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	199
10. CONCLUSÕES	203

11. REFERÊNCIAS	201
ANEXOS	231
Anexo A: Parecer consubstanciado do comitê de ética (estudo clínico de 90 dias)	232
Anexo B: Questionário de hábitos de consumo	237
Anexo C: Cadastro do SISGEN para a utilização do amido de tapioca	241

1. INTRODUÇÃO

O estudo do comportamento do consumidor é uma área essencial para o marketing, sendo um dos assuntos mais relevantes para qualquer empresa que queira ser bem-sucedida. No entanto, não basta analisar o comportamento isoladamente, é preciso entender por que as pessoas agem de determinada maneira. Consumidores de produtos distintos possuem características diferenciadas, neste quesito, torna-se indispensável que cada segmento de mercado entenda quais os desejos e necessidades dos consumidores frente ao seu produto (ANGONESE, 2008).

Atualmente, os cosméticos apresentam-se em destaque no comércio, não só no Brasil, mas mundialmente. Por estar em evidência, tanto na mídia quanto nos lares dos consumidores, esse tipo de produto tornou-se motivo de pesquisas acadêmicas e de mercado em diversos campos de estudo, principalmente no marketing (INFANTE, MELO & MAIA CAMPOS, 2018).

Consumir está estritamente relacionado com o ambiente em que o consumidor se encontra, além da inegável influência das mudanças vividas em sociedade. Mais do que simplesmente usufruir, os consumidores têm buscado expressar e redefinir sua individualidade perante seu meio social. Esse tipo de comportamento tem sido observado notoriamente entre as mulheres que, desde sempre, desafiam os estereótipos convencionais das representações (CARVALHO, 2010).

Os últimos anos têm sido marcados por uma recolocação da mulher no mercado de trabalho, além do crescimento de movimentos feministas que lutam por direitos de igualdade entre os gêneros (SOUZA, 2015). O movimento feminista caracteriza-se, entre vários outros aspectos, por redefinir a classificação de gênero dentro da sociedade. Vale ressaltar que gênero é uma construção social, além do biológico. Há uma tendência em absorver a ideia da construção de gênero como um aspecto social que precisa ser repensado e incorporado ao estudo da relação do consumidor com cosméticos (DE MORAES KYRILLOS, ALMEIDA, 2015).

Isso porque para o mercado cosmético não é diferente, tanto modelos masculinos como femininos estão sendo reconstruídos, por meio das simbologias de gestos, atitudes e o modo de lidar com a sexualidade e o próprio corpo. Houve uma mudança no padrão de comportamento ligado aos gêneros. Diante das conquistas femininas, o homem acabou perdendo a função máxima de provedor da família herdada da sociedade patriarcal e iniciou um processo de transformação da persona social e da intimidade tornando-se mais participativo dentro de casa e apto a dividir cada vez mais as responsabilidades com a mulher (FURTADO, 2007).

Cada vez mais afetado pelas mudanças sociais, o homem tem sentido a necessidade de expressar sua individualidade de forma mais variada, independentemente de sua orientação sexual. Entretanto, polarizar esse tipo de mercado pode colaborar ainda mais com as diferenças observadas entre os gêneros, pois pode existir uma predominância de discurso machista dentro da publicidade veiculada, reafirmando a ideia de que cosméticos são produtos estritamente femininos (FONSCECA, 2015).

Conhecer o mercado de consumo cosmético masculino, bem como a mudança na relação do homem com a cultura que o cerca, torna-se necessário para que novos produtos sejam desenvolvidos, respeitando sua individualidade e, principalmente, as conquistas coletivas das mulheres (FONSCECA, 2015). Além disso, há uma importância em compreender quais são as situações que afastam o homem da utilização de cosméticos, mesmo produtos essenciais como protetor solar (MCKENZIE et al., 2019).

Além do conhecimento mercadológico e sociocultural é necessário entender que as peles de ambos os sexos biológicos se comportam de forma diferente. O órgão em questão tem a ação de transformar a testosterona em diidrotestosterona, forma ativa do hormônio, e a secreção sebácea está intimamente ligada com essa característica. Os homens, portanto, apresentam uma maior secreção sebácea, entre outras questões relacionadas à fisiologia que já estão bem descritas na literatura (MIZUKOSHI, AKAMATSU, 2013).

Entretanto, é inegável a contribuição do meio para com as possíveis alterações e agressões que a pele possa receber (KRUTMANN et al., 2017). Nesse contexto, mais do que apenas questões genéticas estão relacionadas com processos como envelhecimento e até mesmo incidência de câncer de pele. Há uma componente social fortemente atrelada a essa situação, haja visto que o uso de cosméticos também enfrenta uma certa barreira social de acesso (INFANTE, CALIXTO & CAMPOS, 2016; MCKENZIE et al., 2019).

Um dos principais problemas dermatológicos que acometem os homens é a pele oleosa com tendência à formação de comedões. Caracteriza-se por ser uma afecção dos folículos pilosebáceos doença. Uma das características desses folículos é, justamente, a de ter uma glândula sebácea hipertrofiada e um pelo fino, com deposição de queratina de sebo. A hipersecreção sebácea é o segundo fator fundamental para o desenvolvimento de comedões associada ao primeiro fator citado. O desenvolvimento da glândula sebácea se dá na puberdade, graças à ação de hormônios andrógenos, como a testosterona (NAKAHARA et al., 2015; MCCARTY, 2016).

O conhecimento de ativos que auxiliem no reequilíbrio hidrolipídico da pele é uma alternativa para que os problemas citados sejam contornados. Determinados óleos essenciais (misturas complexas e voláteis obtidos de partes secretoras das plantas) apresentam, comprovadamente, ações antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória. Melaleuca, lavanda, eucalipto e tangerina são exemplos de plantas que fornecem óleos essenciais com as características citadas (ABE et al. 2003; PAZYAR et al., 2013; SWAMY, SINNIHAH, 2015). O conhecimento das propriedades terapêuticas de tais óleos, aliado às técnicas precisas de pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos, podem auxiliar em formulações para a manutenção das características da pele com tendência acnéica (LERTSATITTHANAKORN et al., 2006). Há falta de estudos na literatura sobre a eficácia clínica e segurança desses óleos essenciais, tanto utilizados isoladamente ou em combinação, sendo importante o seu estudo detalhado.

A utilização de nanoemulsão pode ser uma alternativa para melhorar a estabilidade do óleo essencial, da formulação cosmética, bem como aumentar a penetração do óleo essencial através do estrato córneo.

A pesquisa e desenvolvimento de cosméticos é necessária para que formulações com características físico-químicas e físico-mecânicas favoráveis sejam obtidas, de forma a melhor veicular o ativo, bem como obter formulações mais estáveis, seguras e com sensorial agradável. Assim, no desenvolvimento de uma formulação cosmética, é fundamental a seleção de matérias primas adequadas, compatíveis entre si e com a pele, bem como a padronização dos métodos de produção e realização de testes de estabilidade e avaliação sensorial para garantir a melhor performance do produto.

Apesar de o sensorial ser o primeiro contato do consumidor com o produto e ter influência direta no sucesso de vendas e/ou adesão ao tratamento, a comprovação dos efeitos acaba sendo de grande importância para atingir as expectativas do mercado, bem como garantir a continuidade do uso. Além disso, a comprovação da eficácia é importante, pois é exigida para fins de registro de produtos cosméticos Grau 2 nas agências regulatórias de saúde. (ESTANQUEIRO, 2016).

Podemos ainda correlacionar o sensorial com as características físico-mecânicas das formulações cosméticas (CALIXTO, INFANTE & MAIA CAMPOS, 2018). Além disso, para a estabilidade física, a reologia tem tido crescente interesse nas indústrias cosmética e farmacêutica, tendo em vista que a consistência e o espalhamento dos produtos devem ser

reproduzidos de lote para lote, assegurando a qualidade tecnológica do produto acabado (GASPAR, MAIA CAMPOS, 2003; GUARATINI, GIANETI, MAIA CAMPOS, 2006).

Nos últimos anos, houve aumento do foco no desenvolvimento tecnológico de metodologias confiáveis e reprodutíveis para caracterizar a pele e avaliar as respostas da aplicação de um produto. Com essas técnicas, busca-se o conhecimento das alterações da arquitetura celular e tecidual, uma vez que são de extrema importância para avaliar as respostas terapêuticas (BRANZAN et al., 2007).

A microscopia confocal de reflectância a laser tem sido considerada uma ferramenta de extensa aplicação na clínica dermatológica, representando-se como uma revolução no diagnóstico de doenças de pele e avaliação de características cutâneas, por permitir a visualização em nível celular com resolução quase histológica de características celulares e teciduais por um método não invasivo, em tempo real. Essa técnica tem sido muito utilizada em estudos dermatológicos, mas ainda carece de dados, tornando-se necessária para estudos que buscam comprovar eficácia clínica de substâncias ativas de uso em produtos cosméticos (BRANZAN et al., 2007; GONZALEZ, GILABERTE-CALZADA, 2008).

As imagens obtidas pelo microscópio confocal permitem a avaliação de características cutâneas tais como espessura das diferentes camadas da epiderme, identificação de áreas hiperqueratóticas na epiderme superficial, na região folicular, aspecto superficial da pele, tamanho e quantidade dos folículos, organização dos queratinócitos, alterações no padrão de pigmentação, quantidade de papilas dérmicas por área, formato dos contornos das papilas dérmicas, tamanho das glândulas sebáceas, e estrutura da rede de colágeno, contagem e tamanho de poros e microcomedões (SAUERMAN et al., 2004; SUGATA et al., 2008; ULRICH et al., 2009; LONGO et al. 2013; WURM et al., 2012,).

Essa técnica pode ser aliada aos aparelhos que utilizam as técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele, resultando em dados mais precisos acerca da segurança e eficácia das formulações. As referidas técnicas utilizam vários equipamentos com diferentes princípios físicos e/ou físico-químicos que facilitam a interpretação dos resultados de como determinado produto cosmético pode atuar na pele (OBA et al., 2002, 2002; SMITH et al., 2002; FIROOZ et al., 2012).

A fototoxicidade é definida como uma resposta tóxica de uma substância aplicada ao corpo que aumenta após a exposição subsequente à luz, ou que é induzida pela irradiação da pele após a administração sistêmica de uma substância (OECD, 2004). É uma resposta cutânea

não imunológica induzida pela luz (dermatite) a um composto fotoativo, e a resposta cutânea é caracterizada por respostas inflamatórias, como eritema e às vezes edema, vesiculação e pigmentação (GASPAR et al., 2013). Alguns óleos essenciais apresentam características fototóxicas e o estudo com diferentes métodos é importante antes dos ensaios clínicos (NATHALIE et al., 2006).

Por outro lado, o estudo com algumas metodologias *in vitro* pode ser limitado pela maior sensibilidade e pela avaliação direta em cultura de células (MACIEL et al., 2019). É importante utilizar outras metodologias usando modelos *ex vivo* e/ou *in vivo*, por exemplo, para entender melhor o comportamento de alguns compostos nos diferentes modelos de pele. A substância pode apresentar citotoxicidade de acordo com a concentração, mas a penetração através do estrato córneo pode ser limitada. Dessa forma, a utilização de metodologias não invasivas como a espectroscopia Raman para estudar a penetração de óleos essenciais no estrato córneo é importante e necessária uma vez que os estudos para compreender o comportamento na barreira cutânea desses compostos são escassos.

Estudos *in vivo* em pele humana demonstram que a luz ultravioleta gera a maioria dos radicais, seguida pela irradiação visível (VIS) e infravermelha próxima (NIR). A irradiação VIS e NIR penetra mais profundamente na pele do que a luz ultravioleta, aumentando a formação de espécies reativas de oxigênio nas camadas mais profundas da pele. Portanto, a proteção solar deve ser adaptada ao tipo de pele e ao conhecimento de como melhorar o fotoprotetor para proteção além da radiação UV (MEINKE et al., 2011). Pensando no público masculino que apresenta barreiras ao uso de protetor solar, a proteção precisa ser pensada para além do UV, agregando atividade antioxidante que reduzam os impactos dos demais comprimentos de onda e da ausência de hábitos cosméticos.

Em síntese, o presente trabalho apresenta como contribuição a avaliação clínica a nível celular, por técnicas objetivas não invasivas, das alterações cutâneas decorrentes da acne e fotoenvelhecimento em homens, podendo fornecer subsídios científicos na elucidação das características desse tipo de pele e para o desenvolvimento de intervenções clínicas adequadas. Além disso, aplica e padroniza técnicas que envolvem tecnologia avançada na avaliação de eficácia em nível celular de produtos cosméticos à base de óleos essenciais e fotoprotetores, associada com avaliações objetivas e subjetivas para demonstrar os efeitos de hábitos e da aplicação de produtos cosméticos. O estudo contribuirá também na comprovação da evolução da relação do homem com a indústria cosmética ao longo dos anos, além de apresentar as influências do marketing dentro da perspectiva de consumo desse mercado consumidor.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A PELE, SUAS CAMADAS E SUAS CARACTERÍSTICAS

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo responsável pela termorregulação, defesa, percepção sensorial e proteção contra agressões externas. É também responsável por reduzir perdas de água e nutrientes para o exterior. Esse órgão apresenta uma renovação constante e é dividido em diferentes camadas e subdivisões com diferentes finalidades para cada uma. Podemos dividi-la basicamente em epiderme e derme, porém mesmo essas camadas apresentam subdivisões importantes para a compreensão da fisiologia da pele e para o estudo da eficácia de cosméticos (JUNQUEIRA et al., 2013).

De fora para dentro, a primeira delas é a epiderme, uma camada com diferentes espessuras de acordo com a região do corpo. Um dos fatores que influenciam essa maior espessura é o atrito, por exemplo, palmas dos pés apresentam maior espessura da epiderme, especialmente por apresentar maior espessura da camada córnea (JUNQUEIRA et al., 2013).

A epiderme se renova de dentro para fora, da camada basal para o estrato córneo. Na basal, as células são menores e há uma maior proliferação. Conforme a epiderme vai se renovando, as células aumentam de tamanho e vão tornando-se mais especializadas até a apoptose – morte celular programada – ocorrer levando à formação da camada córnea, composta basicamente de células mortas, lipídeos, proteínas e água. A epiderme é constituída por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado (células escamosas em várias camadas). A célula principal é o queratinócito que produz a queratina, uma proteína resistente e impermeável responsável pela proteção (JUNQUEIRA et al., 2013).

Como dito anteriormente, a epiderme é a principal interface entre o hospedeiro e o meio ambiente. Evidências substanciais indicaram que as células da epiderme desempenham um papel ativo na geração e expressão de respostas imunes protetoras e reações imunopatológicas, não estando apenas relacionados com proteção física do meio externo (ALBANESI et al., 2005). Nos queratinócitos em repouso, os mediadores imunes são quase indetectáveis. Contudo, após estimulação por luz ultravioleta, por exemplo, podem ser observados alérgenos, agentes microbiológicos e, acima de tudo, citocinas, um aumento significativo de mediadores imunomoduladores *in vitro* e *in vivo*. O resultado de muitas reações cutâneas depende da interferência entre células T infiltrantes e queratinócitos, sendo essas reações mais observadas em modelos *in vivo* do que *in vitro* (SAND et al., 2018). Dessa forma, é importante ressaltar que a epiderme apresenta uma função muito pautada também na defesa celular em vários níveis.

Outra célula encontrada na epiderme é o melanócito. Essa célula é responsável pela produção de melanina que será depositada nos queratinócitos, sendo caracterizada por ser dendrítica. As cores que vemos na pele e seus anexos são em grande parte determinadas por essas células. Além de carotenóides e hemoglobina, a melanina é o principal contribuinte para a pigmentação. Existem dois tipos principais de melanina: a feomelanina (vermelha/amarela) e eumelanina (marrom/preta). Os grânulos contendo melanina são conhecidos como melanossomas e são exportados dos melanócitos para os queratinócitos adjacentes. Como resultado, diferenças de pigmentação podem surgir da variação no número, tamanho, composição e distribuição dos melanossomas, enquanto os números de melanócitos geralmente permanecem relativamente constantes. A produção de melanina sofre influência de agentes externos com a exposição aos raios UV (LIN & FISCHER, 2007).

A epiderme não possui vascularização própria, uma forma de reduzir a penetração de agentes externos à circulação sistêmica. Os nutrientes e oxigênio chegam à epiderme por difusão a partir de vasos sanguíneos que se localizam na derme (JUNQUEIRA et al., 2013).

A epiderme pode ser dividida em algumas camadas:

- **Basal:** está na junção derme-epiderme, sendo constituída por células cúbicas e pouco diferenciadas, que produzem pouca queratina, mas se dividem continuamente. Essa camada é importante porque a divisão e posterior diferenciação para camadas mais superficiais é a base para o processo de renovação da epiderme que leva cerca de 14 a 28 dias;
- **Espinhosa:** nessa camada as células começam a produzir mais queratina do que as da basal. Começam a formar junções celulares umas com as outras, os chamados desmossomas e *tight junctions*. São essas junções que dão o aspecto de espinhos da camada e serão importantes para a formação do estrato córneo posteriormente;
- **Granulosa:** são células achatadas, com grânulos de queratina e produzem também outras proteínas. Apresentam um volume maior, tendo em vista que estão produzindo mais proteínas e já na fase final de renovação celular. Nessa fase também há aumento na produção de lipídeos intra e extracelulares que serão importantes para a formação da camada córnea;
- **Lúcida:** é formada por células achatadas, hialinas, eosinófilas por conta de muitos grânulos proteicos. A maior parte já está em processo apoptótico;
- **Camada córnea:** é uma das partes mais importantes para o estudo da eficácia e segurança de cosméticos. Formada basicamente por células achatadas, sem núcleo e com grande

quantidade de filamentos de queratina. Além disso, apresenta uma grande quantidade de lipídeos e água. Esses lipídeos podem ser provenientes do processo de renovação celular e/ou secretados pelas glândulas sebáceas. É nessa camada que se forma, por exemplo, o microrrelevo cutâneo, importante fator para entendermos a ação dos cosméticos.

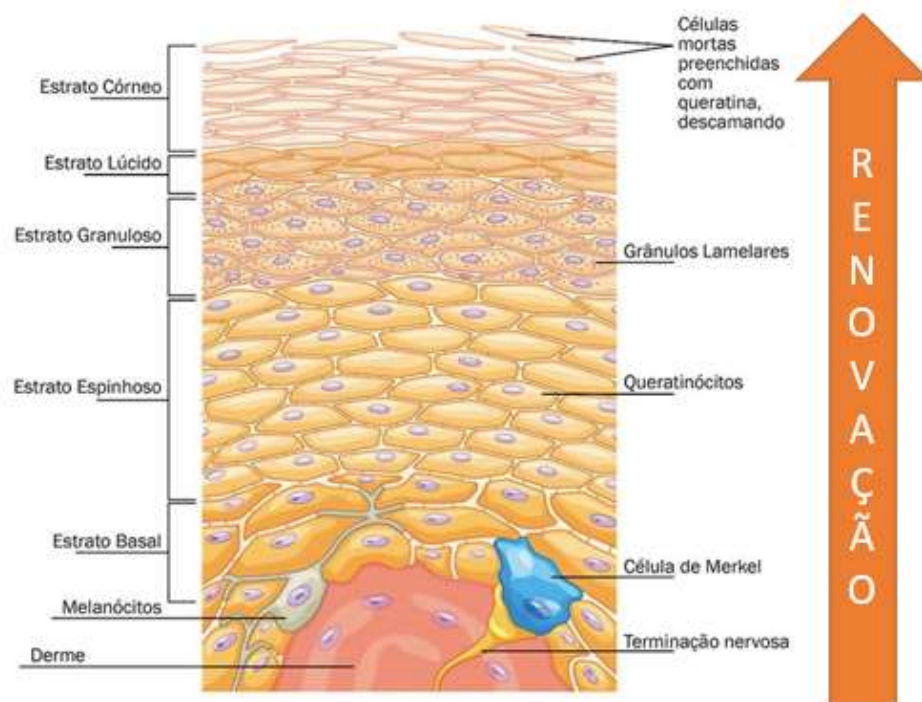
Após o processo de renovação cutânea a pele apresenta um determinado microrrelevo, formado por picos e vales devido à deposição de células mortas, proteínas e lipídeos. Quando a luz incide na pele, se o microrrelevo apresenta-se muito irregular, com grande diferença entre os picos e vales, ela tende a se dispersar mais, tornando a pele opaca e com aparência áspera. Quando reduzimos essa diferença através do uso de cosméticos, seja por ação esfoliativa ou por efeito de maquiagem, a luz se dispersa menos, tornando a aparência mais viçosa e saudável. Esse aspecto é importante para a compreensão de que cosméticos devem atuar na camada córnea e, em alguns casos, nas camadas mais superiores da epiderme viável (PIÉRARD et al., 2003). Processos como hidratação ou formação de filme em cosméticos também podem auxiliar para que o microrrelevo seja melhorado (GIANETI et al., 2013; DE MELO & MAIA CAMPOS, 2019). Ainda, o estrato córneo é importante para reduzir a penetração de substâncias, o que esperamos de fotoprotetores, por exemplo (WEIGMANN et al., 2005).

Outro aspecto interessante da fisiologia da epiderme – mais especificamente na junção com a derme – é a formação de papilas que são invaginações no tecido epidérmico com a capacidade de aumentar as trocas entre a derme e a epiderme, tendo em vista que aumentam a área superficial. Uma característica consistente da pele envelhecida e fotoenvelhecida é o achatamento da junção epidérmico-dérmica, evidenciado em cortes histológicos com o desaparecimento das projeções papilares. Cada papila apresenta uma alça capilar nutritiva única e o achatamento, como esperado, reduz as trocas entre os tecidos. A estrutura das papilas é sustentada por vários tipos diferentes de colágeno de acordo com a posição anatômica (SAUERMANN et al., 2002). Um esquema dessa camada está apresentado na figura 1.

A outra camada da pele é a derme, com presença principalmente de fibroblastos que são células responsáveis pela produção de colágeno que dão sustentação a pele e a elastina que auxilia na elasticidade da pele. É responsável por cerca de 90% da espessura cutânea. É nesta camada que o padrão predominante de fibras de colágeno determina a tensão característica e as rugas da pele. As fibras proteicas da derme deterioram-se com a idade e não são substituídas; conseqüentemente, em pessoas idosas a pele apresenta rugas e flacidez, porém esse processo não está só relacionado ao colágeno, mas a mudanças nos padrões de proporções entre queratina e querato-hialina produzidas na pele (JUNQUEIRA et al., 2013). A exposição solar

desprotegida também pode afetar o padrão de organização das fibras de colágeno, reduzindo sua qualidade e levando a quadros de elastose solar (WLASCHEK et al., 2001). É constituído por elementos fibrilares, como o colágeno e a elastina e outros elementos da matriz extracelular, como proteínas estruturais, glicosaminoglicanos, íons e água (JUNQUEIRA et al., 2013).

Figura 1: Representação esquemática das camadas da epiderme



Fonte: Adaptado de JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013

A derme é subdividida em duas camadas: a camada papilar em contato com a epiderme, formada por tecido conjuntivo frouxo, e a camada reticular, constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, onde predominam as fibras colagenosas (HARPER & GROVE, 1979). Entretanto, é na camada papilar que ocorrem os principais danos associados às fibras de colágeno da pele com relação à exposição solar desprotegida (WLASCHEK et al., 2001). É também na derme que se localizam os vasos sanguíneos que nutrem a epiderme, vasos linfáticos, nervos e os órgãos sensoriais a eles associados como órgão de Ruffini – sensíveis ao calor – e Células de Merckel – sensíveis a tato e pressão, essa mais presentes na junção com epiderme (JUNQUEIRA et al., 2013).

A classificação da hipoderme como parte da pele tem se tornado controversa na literatura científica nos últimos anos, tendo em vista seu caráter metabólico e de armazenamento. Ainda, o tecido adiposo pode ser dividido em duas camadas distintas: hipoderme e tecido celular subcutâneo, pois são camadas que apresentam anatomia, histologia

e metabolismo completamente distintos. É constituída por tecido adiposo que pode armazenar gordura e onde ocorre a conversão de hormônios esteroides que podem atuar nas glândulas sebáceas (DA CUNHA et al., 2014).

Ainda pensando na estruturação da pele é preciso levar em consideração também a estrutura folicular pois essa tem ganhado muita atenção nos últimos anos devido à função de reservatório de nanopartículas, por exemplo (LADEMANN et al., 2008). O tamanho e a quantidade de folículos variam de acordo com o sítio anatômico. A região facial, por exemplo, cresce menos do que as demais áreas do corpo durante o desenvolvimento do indivíduo. Dessa forma, a densidade folicular nessa região é muito maior, sendo de importância para a avaliação clínica de cosméticos, por exemplo (OTBERG et al., 2014). É nessa região que o anexo – pelo ou cabelo – atravessa toda a estrutura da pele, sendo colonizada por bactérias e fungos de importância médica como a *Cutinobacterium acnes*, relacionada à acne (DRÉNO et al., 2018). É por essa estrutura que há a secreção sebácea e podem ocorrer processos como a hiperqueratinização, relacionada a acne (JUNQUEIRA et al, 2013).

Dentro da estrutura do aparelho folicular, a parte superior, o acroinfundíbulo, é coberta por uma camada córnea normalmente estruturada, que pode ser considerada uma barreira. Contudo, na parte inferior do infundíbulo, a parede apresenta poucos ou poucos corneócitos diferenciados e deve ser considerada como altamente permeável (SCHAEFER & LADEMANN, 2001).

Junto da estrutura do folículo há a presença da glândula sebácea que é responsável pela produção de sebo que será secretado, continuamente, até a região infundibular, mais superior, próximo à junção derme-epiderme. São classificadas como holócrinas, ou seja, que excretam para o exterior o seu conteúdo. As glândulas sebáceas encontram-se mais próximas da hipoderme e não são alvo de produtos cosméticos, sendo especialmente importantes para a produção de sebo que possui atividade antioxidante e antibacteriana. O sebo secretado no infundíbulo pode sofrer alguma modificação bioquímica causada por microrganismos e enzimas e depois é secretado, aos poucos por capilaridade, à superfície da pele. Esse processo é importante para entendermos como cosméticos atuam regulando o sebo (JUNQUEIRA et al., 2013; ABRAMOVITS & GONZALEZ-SERVA, 2000).

2.2. TÉCNICAS DE BIOFÍSICA E IMAGEM PARA AVALIAÇÃO DA PELE

Para a compreensão da saúde da pele, bem como da eficácia de produtos cosméticos e da ação de agentes externos, medidas objetivas baseadas em princípios biofísicos foram desenvolvidas. As técnicas serão apresentadas de acordo com sua função.

A medida dos níveis de água da primeira camada da pele se dá através do princípio da capacitância. Esse princípio se vale da passagem de uma corrente elétrica através do estrato córneo de baixa potência. A presença de água facilita a passagem dessa corrente, enquanto a sua ausência dificulta tal evento. Dessa forma, valores arbitrários são obtidos de acordo com essa medida (WERNER, 1986).

Nossa pele perde água constantemente para o meio e essa medida instrumental vale-se do princípio de difusão de Fick. Esse princípio baseia-se em que a água vai de um meio mais concentrado para um menos concentrado. É expressa por gramas por metro quadrado e por hora. O estrato córneo saudável apresenta água em sua composição e a perde em uma taxa não muito constante para o meio, porém quando a barreira da pele está comprometida essa perda é maior e acaba afetando até mesmo partes da epiderme viável (MÜNDLEIN et al., 2008).

Quando há a aplicação de produtos tópicos na superfície da pele, há alterações nas imagens de microscopia confocal tanto no estrato córneo, quanto na camada granulosa. No estrato córneo é possível observar o aumento do brilho e redução da distância dos sulcos, sendo mais proeminente em produtos cosméticos com características filmógenas (DE MELO & MAIA CAMPOS, 2019). Ainda, é possível observar o intumescimento da camada córnea, aumentando sua espessura e se acoplada de espectroscopia Raman é possível observar a relação de água ligada ao fator natural de hidratação (CHOE et al., 2017). Manfredi et al. (2013) descreveram também que a camada granulosa apresenta um maior brilho interqueratinócito, com aumento no volume celular após a aplicação de produtos cosméticos. Essa metodologia ainda está sendo melhorada para a aplicação em novos estudos para a eficácia de produtos cosméticos.

Uma variedade de técnicas tem sido usada para medir os níveis de sebo na pele, incluindo classificação visual, extração com solvente, papel absorvente, argila de bentonita, fita ou filme absorvente de lipídios, técnicas fotométricas e absorção gravimétrica. Um dispositivo amplamente utilizado é o Sebumeter[®], que é uma técnica fotométrica. Com esse dispositivo, os óleos na superfície da pele são absorvidos em um filme polimérico, tornando o filme transparente. À medida que mais óleo é absorvido, o filme se torna mais transparente e a

medição pode ser usada para determinar a oleosidade da pele. É comumente relatado que a saída do dispositivo se correlaciona diretamente com o nível de sebo na pele nas unidades de $\mu\text{g}/\text{cm}$ (CROWTHER, 2016). Leite e Maia Campos (2020) utilizaram essa técnica para analisar o sebo presente na região capilar.

Essa medida biofísica vale-se do mesmo princípio para a citada anteriormente, entretanto a fita absorvente lipídica do Sebumeter[®] coleta todo o sebo presente nas camadas superiores da pele, incluindo o reservatório folicular e a superfície interfolicular da pele. Já o Sebifix[®], outra técnica baseada em biofísica, absorve apenas o sebo presente na parte superior do infundíbulo, sendo uma ótima forma de analisar a liberação de sebo para a superfície da pele em tempo real. Ambas as técnicas podem ser utilizadas de forma complementar para melhorar a análise do sebo (DOBREV, 2007). Maia Campos et al. (2019) mostraram em seu estudo que a quantidade de sebo produzida varia de acordo com a região facial e com o tipo de pele, sendo importante delimitar as regiões de estudo.

Um método para quantificar a topografia da pele humana é desejável porque torna-se possível mensurar os efeitos que os tratamentos cosméticos têm no relevo cutâneo. Perfilômetros são instrumentos de ponta que geram um traço do contorno de uma superfície, convertendo o movimento vertical da ponta de uma ponta em sinais elétricos à medida que a ponta é movida pela superfície. Gráficos da saída elétrica de um perfilômetro em função do tempo ou deslocamento horizontal (comprimento de varredura) são frequentemente chamados de perfis de superfície (perfilogramas), ou seja, essas técnicas valem-se de princípios baseados na cartografia. De uma forma simples, a perfilometria é uma forma de cartografar o microrrelevo cutâneo, sendo útil para observarmos eficácia de cosméticos, formação de filme e dispersão na superfície da pele. Na pele, esses perfis representam vistas em corte transversal do limite superior da pele. Os parâmetros de rugosidade, quantidades físicas que podem ser interpretadas geometricamente a partir dos perfis de superfície, são usados para quantificar as medições da superfície (COOK et al., 1982).

Há diferentes tipos de ultrassons utilizados para a avaliação das características morfológicas da pele. Um deles é o DermaScan que utiliza um ultrassom de 20MHz[®].

Com esse aparelho é produzida uma imagem transversal da pele humana com uma resolução axial de 80 μm e resolução lateral de 200 μm com um transdutor de foco preciso. A onda ultrassônica é parcialmente refletida na fronteira entre estruturas adjacentes e produz ecos de diferentes amplitudes. A intensidade dos ecos de reflexão é avaliada pelo microprocessador e é visualizada como uma imagem em modo B bidimensional com código de cores. A amplitude

média dos ecos em uma área definida da imagem é conhecida como ecogenicidade, que pode ser objetivamente medida com a análise de imagem assistida por computador. A velocidade do ultrassom na pele foi fixada em 1.580 m/s.

A imagem típica do ultrassom obtida de uma pele saudável é composta por três camadas de ecogenicidade diferente. A camada mais externa é altamente ecogênica, fina, e está correlacionada com a epiderme. Por baixo, há uma camada dérmica, que é menos ecogênica do que a epidérmica e contém muitos ecos diferentes de várias intensidades. Nessa região podemos subdividir entre derme papilar e derme reticular. A última camada está relacionada ao tecido subcutâneo não ecogênico e onde o aparelho perde resolução.

Essa metodologia é especialmente importante para a compreensão das redes de colágeno da pele que se localizam na derme (POLANSKA et al., 2013). Pellacani & Seidenari (1999) observaram que essa metodologia apresenta algumas limitações como por exemplo, peles com processos inflamatórios podem ter a medida de ecogenicidade atrapalhada, já que o processo inflamatório envolve o acúmulo de água – edema – que pode atrapalhar na resposta da técnica. Eles observaram, ainda, que a ecogenicidade varia de acordo com a região do corpo e há variação nos sítios anatômicos da face.

Mercurio et al. (2016) utilizaram a técnica para a observação de dano causado pela exposição solar desprotegida. É possível observar uma hipoecogenicidade – sinal de baixa intensidade – na camada superior da derme. Esse sinal clássico de fotoenvelhecimento foi observado também por outros autores (SHIRATA et al., 2019; NAKAHIGASHI & SUGAI, 1996; GNIADOCKA & JEMEC, 1998).

A Microscopia Confocal de Refletância a laser é uma técnica muito importante e inovadora para avaliar as características morfológicas e estruturais da pele, principalmente nas camadas da epiderme, estrato córneo e derme papilar, perdendo resolução na derme reticular. Este equipamento permite a determinação de características e alterações morfológicas e estruturais em tempo real da epiderme após a aplicação de uma formulação tópica, por exemplo (DE MELO & MAIA CAMPOS, 2019). É possível utilizar essa técnica para analisar a espessura das camadas, avaliar área das células, número de células, pigmentação, padrão de organização celular, morfologia da pele, estruturas de colágeno presentes na derme. É uma ferramenta muito útil para a avaliação da eficácia de cosméticos e para estudar a influência dos hábitos na saúde e qualidade da pele, uma vez que é possível quantificar os danos causados pela exposição solar desprotegida (LONGO et al., 2013).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são essenciais para funções biológicas, como a cadeia respiratória, transferência de sinal e resposta imune. No entanto, em excesso, poderão ocorrer efeitos negativos como o estresse oxidativo (LOHAN et al., 2015).

Esse estresse é agravado após exposição solar desprotegida e/ou efeitos de poluição na pele. Sabe-se, por exemplo, que a exposição às radiações UVA, visível e infravermelha aumentam a produção de radicais livres na pele. A radiação UVB acaba aumentando também, porém por um mecanismo mais indireto, envolvido no processo de modulação inflamatória (MEINKE et al., 2011). Os efeitos dessa exposição desprotegida na pele e nos diferentes modelos de estudo já estão bem estudados, porém ainda é necessário estudar mais sobre o fator de proteção de radicais livres das formulações fotoprotetoras (ZASTROW et al., 2017). É preciso entender, também, as variações possíveis em peles de fototipos mais altos, as evidências mais recentes demonstram que há diferenças em como cada radiação estimula cada tipo de pele (ALBRECHT et al., 2019).

Para essa finalidade podemos utilizar o a ressonância eletroparamagnética (EPR), que é uma metodologia não invasiva baseada na absorção da radiação de micro-ondas por substâncias paramagnéticas em um campo magnético estático aplicado externamente. A absorção de micro-ondas ocorre quando a radiação aplicada corresponde à diferença de energia entre os estados de rotação de um elétron não emparelhado. Substâncias paramagnéticas contêm elétrons não emparelhados, permitindo a detecção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio na pele (ELPELT et al., 2019).

Radicais semiestáveis podem ser usados para investigar a capacidade de eliminação de radicais da pele. Para esta técnica, o marcador de rotação é aplicado no antebraço ou no modelo de pele escolhido para a realização do estudo e a diminuição do sinal EPR é monitorada ao longo do tempo. Os radicais livres reagem com a sonda de rotação e a reduzem, reduzindo o sinal gerado. Se uma formulação apresenta um bom sistema antioxidante, após a exposição aos radicais livres é esperado que haja uma redução menos perceptível no marcador de rotação, tendo em vista que o antioxidante reage com os radicais livres (LOHAN et al., 2015; ELPELT et al., 2019).

Para estudos de eficácia de cosméticos e da análise das alterações cutâneas ocasionadas pela exposição solar desprotegida são necessárias imagens de alta de resolução dos participantes. Entretanto problemas como padronização de iluminação e posição são comuns para esse tipo de estudo. Aparelhos de alta resolução de imagem utilizando iluminação LED e posição padronizadas são desejados para que possamos melhorar a forma como analisamos a

eficácia dos cosméticos. Ainda, com essa tecnologia, é possível analisar o número de poros, profundidade de rugas e padrão de pigmentação, transformando dados qualitativos em quantitativos (MAIA CAMPOS et al., 2019).

Com essas tecnologias é possível estudar vários parâmetros relacionados às características da pele, sendo interessante para a aplicação com relação às diferenças biofísicas, morfológicas e estruturais entre pele masculina e feminina, por exemplo.

2.3. DIFERENÇAS BIOFÍSICAS, MORFOLÓGICAS E ESTRUTURAIS ENTRE A PELE MASCULINA E FEMININA

É inegável que há diferenças fisiológicas entre as peles masculina e feminina já bem retratadas na literatura e bem entendidas nos campos médico e farmacêutico. Essas diferenças resultam em alterações estruturais quando comparamos ambos os sexos. Homens, por exemplo, apresentam barba na região da face, o que implica não apenas em uma fisiologia diferente, mas hábitos como o barbear que também afetam a saúde e qualidade da pele (COWLEY, VANOOSTHUYZE, 2012). Aqui já podemos começar a trabalhar a distinção entre as ideias de sexo biológico, sexualidade e identidade de gênero e como é preciso entender essas diferenças para que os estudos sejam mais do que apenas a polarização homem/mulher.

Em termos simples, o sexo biológico diz respeito às características biológicas que a pessoa tem ao nascer e isso é dependente de fatores cromossômicos que levam à formação de genitália, diferenças na composição hormonal, entre outros. Importante ressaltar que a questão hormonal pode se alterar durante a vida do indivíduo, uma vez que na puberdade há o aumento de testosterona para homens e progesterona para mulheres (DE JESUS, 2012). Em um primeiro momento, isso infere que a pessoa possa nascer macho, fêmea ou intersexual.

Há uma relação direta na questão do sexo biológico, composição hormonal e características fisiológicas da pele. O sexo masculino, por exemplo, por possuir uma quantidade maior de testosterona circulante apresenta uma produção maior de sebo pelas glândulas sebáceas, uma vez que o mecanismo é altamente dependente de hormônios esteroides. Isso já está bem descrito na literatura desde os anos 60 (POCHI et al, 1965). Entretanto, a testosterona – especialmente sua forma ativa 5α -Di-hidrotestosterona – é importante para a biologia do folículo piloso, como aumento da espessura do folículo e do início do surgimento de barba. Essas características sexuais secundárias são importantes para a compreensão da fisiologia – e das patologias – da pele masculina (DEPLEWSKI & ROSENFELD, 2000).

Como há uma relação direta da concentração de hormônios circulantes com as características da pele e esses variam durante a vida do indivíduo fica fácil elucidar que a idade também seja um fator importante para a compreensão das variações fisiológicas que ocorrem durante a vida do indivíduo de sexo masculino. Essa informação é necessária, porém não suficiente, para entendermos, por exemplo, o processo de envelhecimento cutâneo masculino ou a perda de cabelos (alopecia androgenética) (LEVEQUE et al, 1984). Não é suficiente pois há fatores relacionados à cultura, hábitos e identidade de gênero que afetam esse processo, sendo abordados em um momento futuro desta tese.

Com relação às medidas biofísicas e de imagem da pele para avaliar as características hidrolipídicas, morfológicas e estruturais – focos dessa tese - há uma variedade de estudos comparando peles masculina e feminina, além da variação dos parâmetros com as diferentes idades. LUEBBERDING, KRUEGER & KERSCHER (2013) mostraram em seu estudo com 300 participantes alemães do sexo masculino e feminino (150 de cada), com idades variando entre 20 a 74 anos divididos em 5 grupos (30 homens e 30 mulheres em cada grupo) , as variações no pH, perda transepidermica de água (TEWL), conteúdo aquoso do estrato córneo e sebo superficial. Foi observado que mulheres apresentam uma maior perda transepidermica de água entre as idades de 30 a 49 anos tanto para a região frontal quanto para o antebraço. Também foi observado maior valor de pH na região do queixo para as participantes do sexo feminino em todas as etapas da vida e um maior valor de sebo superficial para os participantes do sexo masculino, o que pode estar correlacionado, uma vez que a secreção sebácea tem relação com a formação do manto ácido da pele.

Com relação à função barreira da pele há certa controvérsia na literatura na afirmação generalista de que indivíduos do sexo masculino apresentarem sempre um maior valor para esse parâmetro. Isso porque há uma dependência de parâmetros fisiológicos como localização anatômica, hábitos cosméticos, idade, cor da pele, patologias cutâneas e até localização geográfica do participante. Dessa forma, o entendimento para esse parâmetro precisa ser mais individualizado e pensado além do sexo biológico, com forte influência de fatores como o uso de cosméticos, foco que será discutido com maior embasamento ao longo desse estudo (DARLENSKI & FLUHR, 2012). Enquanto no estudo de 2013 conduzido pelo grupo alemão há uma maior perda transepidermica observada à pele feminina, em outro estudo iraniano foi observado o contrário, com maior perda transepidermica associada aos participantes do sexo masculino (FIROOZ et al., 2012).

Man et al. (2009) apresentaram em seu estudo, com população chinesa, que o conteúdo de sebo, o pH da superfície da pele e a hidratação do estrato córneo variam com a idade, sexo biológico e sítios anatômicos. Estas alterações, especialmente o conteúdo de sebo, estão correlacionadas com a idade. Esse resultado é interessante porque aparentemente está relacionado com o conteúdo superficial de sebo, porém também é outro parâmetro em que observamos grande divergência na literatura atual. Bailey et al. (2012) relataram que o pH da pele é mais baixo (mais ácido) nos participantes do sexo masculino, mas um estudo realizado por Zlotogorski (1987) mostrou que o pH da pele não estava correlacionado com o sexo biológico. No estudo de Luebberding (2013) apresentado anteriormente, o pH da pele foi maior nas bochechas em ambos os sexos, se comparado com os demais sítios anatômicos, porém não significativo entre os grupos de diferentes sexos. Ainda, resultados de um estudo de Wilhelm et al. (1991) não demonstraram diferença nos valores de pH entre sexo masculino e feminino na maioria das regiões anatômicas.

Em outro estudo, Luebberding, Krueger & Kerscher (2014a) apresentaram um desenho experimental similar ao primeiro citado, porém comparando com relação às características mecânicas da pele dos participantes do estudo. Os resultados mostram que a capacidade elástica da pele para se recuperar após a distensão é mais fortemente afetada pelo processo de envelhecimento do que pela firmeza da pele. Além disso, os resultados mostram que as propriedades mecânicas mudam diferentemente em participantes do sexo masculino ou feminino ao longo da vida e que a pele feminina é menos distensível, mas tem maior capacidade de se recuperar após o alongamento quando comparada à pele masculina. O estágio anterior à menopausa pode causar uma diminuição acelerada da elasticidade da pele em mulheres, reforçando que as diferenças biológicas estão relacionadas com a concentração e a variação de hormônios circulantes.

Em outro estudo do mesmo grupo de pesquisa foram analisados 200 participantes dos sexos masculino e feminino. O estudo verificou o aumento progressivo dos pés de galinha e das linhas da testa e glabelas com o passar da vida. O maior aumento na gravidade das rugas é encontrado a partir dos 50 anos. Vale lembrar que esse estudo foi realizado na Alemanha, na cidade de Hamburgo, com baixo índice UV. Ainda, nesse ponto, as rugas da idade se tornam não só mais profundas, mas também mais amplas, resultando em um volume maior e, portanto, em maior visibilidade clínica. Nesse estudo foi observado que os homens desenvolvem rugas mais cedo e mais proeminentemente do que as mulheres, especialmente as linhas da testa, que

já são marcadas nos indivíduos do sexo masculino na faixa dos 20 anos (LUEBBERDING, KRUEGER & KERSCHER, 2014b).

Lasagni & Seidenari (1995) mostraram em seu estudo que a pele masculina se caracteriza por ter uma maior espessura, com menor razão de ecogenicidade do que a feminina quando analisaram as bandas obtidas na região da derme. Espera-se, portanto, uma derme mais espessa, porém com menor densidade de colágeno para o público masculino. As autoras também frisam a importância de outros estudos levando em consideração o hábito de vida dos participantes de estudos para a compreensão de tais características.

Como mostrado na revisão feita por Rahrovan et al. (2018), vários estudos compararam as propriedades biofísicas da pele entre indivíduos do sexo masculino e feminino. Para alguns parâmetros, os resultados são reprodutíveis, como é o caso do sebo superficial. Esse parâmetro tende a ser maior nos indivíduos do sexo masculino porque o sebo é altamente influenciado pelos hormônios sexuais. Além disso, a pigmentação e a espessura da pele são significativamente maiores para esse mesmo público. Sendo o mesmo observado para as rugas faciais (mais profundas) e a flacidez facial, mas não há diferença significativa na elasticidade da pele entre os sexos. Por outro lado, os resultados de outros parâmetros são conflitantes, o que pode ser devido a diferenças no desenho do estudo, dispositivos de medição, tamanho da amostra, local da medição, condições ambientais e genética, como afirmado pelos autores.

Entretanto, não apenas a biologia pode ser levada em consideração quando pensamos nos parâmetros biofísicos da pele. O hábito do uso de cosméticos influencia diretamente na manutenção do equilíbrio hidrolipídico e condições gerais da pele. Esses hábitos estão altamente atrelados a condições sociais que facilitam e/ou atrapalham o acesso e utilização de cosméticos com frequência.

2.4. AS NORMAS DE MASCULINIDADE, O COMPORTAMENTO DO HOMEM, O USO DE COSMÉTICOS E OS IMPACTOS NA SAÚDE DA PELE

É interessante observar que os estudos sempre estão levando em questão recortes com relação ao sexo biológico, idade ou até mesmo a posição geográfica. Entretanto há poucos estudos que buscam entender outras variáveis como pele masculina negra e como isso impacta nos parâmetros de biofísica e imagem da pele. Além disso, os estudos sempre abordam sobre as diferenças entre os sexos em relação aos parâmetros de biofísica e imagem da pele ou outros abordam apenas na relação com o consumo direto de produtos, mas há uma falta em relacionar

esses dois tipos de estudo além de adicionar importantes discussões referentes a normas de masculinidade relacionadas a questões de identidade de gênero.

Simone de Beauvoir, em sua obra “O segundo sexo” de 1967, proferiu a expressão “Não se nasce mulher, torna-se”. Aqui podemos utilizar essa expressão para começarmos a entender que a forma como homens e mulheres se comportam enquanto indivíduos sociais estão moldados pela cultura que os cerca. Essa fala representa não apenas a diferença de tratamento para homens e para mulheres em uma sociedade patriarcal, mas também partimos aqui para o entendimento de que identidade de gênero não está totalmente vinculada ao sexo biológico. Ainda, podemos extrapolar e pensar na questão de expressão de gênero. Enquanto identidade de gênero é a percepção que uma pessoa tem de si como sendo do gênero masculino, feminino ou de alguma combinação dos dois, independente de sexo biológico, a expressão de gênero é como a pessoa manifesta publicamente a sua identidade de gênero, por meio do seu nome, da vestimenta, do corte de cabelo, dos comportamentos, da voz e/ou características corporais e da forma como interage com as demais pessoas (GLAAD, 2016). E é aqui que entra a importância do estudo de fisiologia da pele e uso de cosméticos para além de sexo biológico, precisando ser entendida também a expressão de gênero, consumo e posterior impacto na saúde da pele.

Essas discussões podem parecer distantes da discussão sobre as características fisiológicas da pele, mas aproximam-se quando observamos dois aspectos congruentes: a pele como órgão de contato social e como as normas de gênero afetam o uso de cosméticos. O referido órgão torna-se importante nos contextos sociais e culturais porque é através dele que nos expressamos ao mundo e que conseguimos dividir afetos. Os sentidos cutâneos - especialmente o toque - são cruciais ainda não apenas para a sensação, mas também para a emoção. As representações relacionadas ao toque e à dor também fornecem uma base para representações intersubjetivas, influenciando a compreensão do conhecimento sensorial, emocional e mental dos indivíduos (LÖKEN & OLAUSSON, 2010). Nesse sentido há também uma grande correlação com os cosméticos, tendo em vista seu grande apelo sensorial e de bem-estar.

Um exemplo desse contexto social é o trabalho publicado por McKenzie, Rademaker & Kundu (2019) onde os autores discutem como papéis de gênero demonstraram influenciar comportamentos relacionados à saúde. Para os autores, a masculinidade é frequentemente associada a comportamentos prejudiciais à saúde, enquanto a feminilidade é associada a comportamentos promotores de saúde. Essa observação também é feita por outros grupos de pesquisa (GALDAS, CHEATER & MARSHALL, 2005; COURTENAY, 2010; CREIGHTON

& OLIFFE, 2010; GRIFFITH et al., 2016). Porém no estudo publicado em 2019, os grupos focais sugerem que os homens americanos evitam a utilização de fotoprotetor por causa da associação de feminilidade com produtos de beleza e têm dificuldade em pedir aos colegas do sexo masculino que ajudem a aplicar o protetor solar, porque viola as normas de contato corporal de homem para homem, reforçando o impacto na saúde da pele dos homens por conta das normas sociais.

Apesar desses achados e da maior incidência de melanoma nos homens (National Cancer Institute), as intervenções de proteção solar raramente se concentram na população masculina, bem como o desenvolvimento de produtos cosméticos. A literatura carece de estudos que correlacionem a relação do público masculino com os produtos cosméticos, bem como os impactos na saúde da pele. Essa relação poderia ainda ser uma das causas responsáveis por tantas variações nos estudos para a compressão das características hidrolipídicas, morfológicas e estruturais da pele comparadas à feminina, uma vez que afasta o homem do uso de cosméticos, afetando parâmetros como TEWL e pH cutâneo, além de poder ter correlação com o fotoenvelhecimento precoce.

2.5. A SEGMENTAÇÃO DOS PRODUTOS COSMÉTICOS E AS DEFINIÇÕES DE MASCULINIDADE

A despeito do processo de segmentação, de nada adianta o desenvolvimento de um cosmético altamente tecnológico e personalizado para a o público masculino se ele continua a rejeitar a utilização por conta de uma norma masculina criada socialmente. Nesse sentido, estudar a relação do homem brasileiro com cosméticos é importante porque estamos nos referindo a um dos maiores mercados mundiais (INFANTE, MELO & CAMPOS, 2018).

Além disso, na realização de testes de eficácia de cosméticos é possível identificar padrões de comportamento no uso desses produtos e como isso afeta diretamente a saúde da pele dos indivíduos. Cumpre ressaltar que o presente estudo é o primeiro com enfoque no público masculino desde o entendimento social do homem, o desenvolvimento de produtos cosméticos, estudos de eficácia, perfil de consumo, a relação do homem com cosméticos e como isso impacta na saúde e qualidade da pele masculina.

Para conseguir driblar essas normas masculinas limitantes ao acesso de uso de cosméticos, as definições do homem precisaram ser revistas. Elas estão altamente correlacionadas com um processo de mudança que tem fina relação com as mudanças sociais vistas no século XX, como por exemplo, a maior ocupação da mulher no mercado de trabalho,

a visibilidade da comunidade LGBTQ+ e a mudança em como as famílias se estruturam (MILLER 2005; POMPPER, 2010). Cada vez com menos filhos – ou mesmo sem – os homens puderam começar a ter mais espaço para viver a masculinidade de forma mais variada e menos enraizada em preceitos relativos à normas arcaicas que limitam a experiência sensorial e de consumo. Em outras palavras: mesmo sob a óptica do consumo, as normas de masculinidade anteriormente citadas não são mais tão interessantes.

É interessante ressaltar que a construção social do homem metrosssexual tem relação especial com o homem heterossexual, tendo em vista sua maior resistência em aderir ao universo feminino. Originalmente identificado como um fenômeno cultural de destaque na imprensa europeia esse homem foi identificado como heterossexual moderno urbano, bem-sucedido, sofisticado e bem-preparado, ou seja, vendendo uma ideia de sucesso cosmopolita. Em junho de 2003, o New York Times publicou um artigo sobre o fenômeno de "homens heterossexuais bem tratados e hidratados" e introduziu pela primeira vez o termo "metrosssexualidade" nos EUA (SHUGART, 2008).

O movimento do homem metrosssexual tem um apelo principalmente norte-americano e europeu durante os anos 2000. Outras culturas passaram por processo semelhante para a redefinição da relação dos homens com os produtos cosméticos. Um exemplo é a Coreia do Sul que passou por uma ressignificação de toda a sua sociedade desde o início dos anos 2000, tornando-se um dos grandes produtores e consumidores de cosméticos. Entretanto, o país era enraizado em questões masculinas que barravam o avanço desse setor entre os homens. O termo “masculinidade suave” surge como forma de incentivar o homem sul-coreano a consumir mais cosméticos, aceitando normas de autocuidado. Esse tipo de comportamento sofreu grande influência por conta da popularização do K-pop, ritmo musical sul-coreano (MILLER, 2014; RHODE, 2016).

Para o Brasil essa percepção de masculinidade heterossexual menos pautada em preceitos limitantes está presente nos anos 2010 e até hoje configura uma dicotomia interessante. O país configura como o maior mercado de consumo cosmético para o setor masculino (EUROMONITOR, 2019) e mesmo assim ainda apresenta limitações em utilização de cosméticos mais essenciais como fotoprotetor, porém com alta adesão a produtos de higiene pessoal como xampus, sabonetes e perfumes (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2016). Tribst e Souza (2020) observaram em seu estudo que os homens brasileiros são influenciados pela publicidade para adquirir novos produtos e que a aceitação pela sociedade é algo importante no tocante do consumo de produtos cosméticos pelos homens brasileiros. Outra

(2010) observou em seu estudo que o homem brasileiro apresenta dificuldades para falar sobre produtos cosméticos, bem como que a mulher tem um papel interessante para que exista uma maior aceitação do homem para com os produtos cosméticos. Fernandes (2016) observou em seu estudo um crescimento da presença da figura masculina em anúncios publicitários nos anos 2010 no Brasil, reforçando que esse espaço foi construído mais tardiamente no país. Maximo e Leite (2020) observaram que ainda há um espaço de resistência frente ao uso de cosméticos pelos homens brasileiros.

2.6. O CONSUMO DAS DIFERENTES CATEGORIAS DE PRODUTOS COSMÉTICOS PELOS HOMENS AO REDOR DO GLOBO

É interessante ressaltar que muitos dos estudos com cunho social, apesar de muito importantes, associam produtos cosméticos todos como uma única categoria, porém é necessário destrinchar melhor essas definições. Os produtos cosméticos são divididos basicamente em produtos de higiene, maquiagem, perfumaria, cuidados com a pele e poderíamos colocar fotoprotetores em uma classificação mais a parte, tendo em vista sua complexidade e importância. A ANVISA divide os produtos cosméticos como Grau 1 ou Grau 2, de acordo com público-alvo (produtos infantis são considerados grau 2) e necessidade de testes de segurança e eficácia.

Nos estudos que associam o consumo de cosméticos ao público masculino brasileiro vemos que há uma certa disparidade de acordo com diferentes categorias. A utilização de produtos de higiene é unânime entre os homens, porém produtos de cuidados com a pele e fotoprotetores ainda apresentam taxas de adesão muito baixas, ficando abaixo dos 30% para essas categorias (ABIHPEC, 2015; INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2016; DA SILVA et al., 2019). De fato, essa informação nos chama atenção porque a não utilização de fotoprotetores em um país tropical como o Brasil pode ser uma das causas de câncer de pele em maior número entre os homens, como já mencionado anteriormente. Além disso, os efeitos da radiação solar na pele masculina precisam ser entendidos de forma particular, levando em conta uma menor adesão ao uso de protetor solar, bem como de produtos de cuidado com a pele. Há ainda, entretanto, poucos estudos no Brasil que levam em consideração o uso de cosméticos de acordo com cada uma das categorias.

Souiden & Diagne (2009) mostraram em seu estudo comparando o comportamento de homens franceses e canadenses que ambas as nacionalidades apresentam motivações diferentes. A publicidade e a atratividade são identificadas como tendo um forte impacto positivo no consumo masculino de produtos de higiene pessoal nos dois países, reforçando que há uma

forte tendência masculina para o consumo de produtos de higiene. Por outro lado, as crenças sociais e as preocupações com a saúde são relatadas como não tendo um impacto significativo no consumo masculino de cosméticos nos dois países, em concordância com outros estudos apresentados. Quanto ao envelhecimento, a consciência da imagem, a situação da compra e o estilo de vida tiveram impacto variável, provavelmente uma variável socioeconômica pode ser percebida. Ainda com relação à população francesa, em outro estudo foi observado que há diferença entre as quantidades de produtos utilizados pelos homens e mulheres, por exemplo, homens usam menos sabonete líquido e mais gel para cabelo do que o público feminino (FICHEUX et al., 2016).

Khan e colaboradores (2017) estudaram os porquês e motivações de homens chineses e paquistaneses consumirem cosméticos. Autoimagem, crenças sociais, assistência médica e envelhecimento são os fatores que mais influenciam os dois países. O estilo de vida está levando os consumidores masculinos chineses a comprar produtos de beleza, mas os consumidores paquistaneses de produtos cosméticos masculinos não levam isso em consideração ao tomar uma decisão de compra. A atratividade física é o fator motivador vital para os usuários paquistaneses de produtos cosméticos masculinos. Vemos que há um reforço da influência da cultura no aspecto de consumo cosmético, ainda que muitas das limitações ao acesso de produtos cosméticos venham de uma cultura que reforça o estereótipo do homem que não deve ter acesso ao autocuidado.

Duarte e colaboradores (2019) observaram um panorama parecido ao brasileiro entre os homens portugueses, com cosméticos relacionados a higiene, perfumaria e estilização de cabelo e barba como os mais consumidos. Há uma mudança sendo observada para os consumidores de produtos para os cuidados com a pele, mas ainda não é um mercado tão expressivo como o de produtos de higiene.

Verdugo & Ponce (2020) observaram em um estudo com amostra de população chilena que os homens estão mais dispostos a utilizar produtos de segmento de luxo do que as mulheres, associando preço à eficácia. Esse segmento mostra-se especialmente atraído pelo setor perfumista.

Alves da Silva Lima (2019) mostrou em seu trabalho com participantes brasileiros, indianos e europeus que os homens ainda pensam no consumo de produtos cosméticos como um tabu e sua percepção sobre o assunto sofre diretamente com a influência de seu ambiente social e cultural, sendo muito perceptível ao homem brasileiro. A maioria dos entrevistados na

referida pesquisa não admitiu publicamente o consumo de produtos de beleza, apesar de fazê-lo, evidenciando um possível barreira cultural a respeito da utilização de produtos cosméticos.

2.7. O ESTUDO DO CONSUMO DE COSMÉTICOS E A EXPOSIÇÃO A COMPONENTES QUÍMICOS

Outra importante contribuição de estudos que buscam entender a relação de homens com cosméticos vai além das características mercadológicas e se insere dentro de uma perspectiva de exposição às substâncias químicas presentes nos cosméticos (FICHEUX et al., 2019). Park e colaboradores (2018) mostraram em seu estudo que há diferenças significativas entre o consumo de cosméticos entre homens e mulheres na Coreia do Sul e isso afetaria a exposição aos componentes de produtos cosméticos. O estudo de consumo de cosméticos mostra-se não apenas mercadológico, mas com importantes aspectos para aplicações nas áreas de sociologia, toxicologia, dermatologia e tecnologia farmacêutica.

Produtos cosméticos são diretamente aplicados à pele humana. Enquanto a pele fornece uma barreira protetora através do estrato córneo, certos ingredientes podem penetrá-la e tornarem-se sistemicamente disponível, o que reforça a importância de estudos de penetração de substâncias utilizadas em cosméticos. Alguns produtos cosméticos são aplicados às mucosas, o que pode aumentar a biodisponibilidade ou, no caso dos produtos para os lábios, fornece a oportunidade para ingestão oral. A avaliação de segurança requer conhecimento tanto do perigo intrínseco dos ingredientes contidos no produto quanto bem como dados sobre os níveis de exposição (LORETZ et al., 2005). Aqui é importante ressaltar que conhecer os hábitos de consumo é a principal forma de obtermos informações relevantes sobre essa exposição porque esse conhecimento alia o tipo de produto, frequência de exposição e local de administração. Há pouca informação na literatura relevante para o público masculino em relação ao uso de cosméticos, especialmente para o Brasil, um dos maiores mercados mundiais (INFANTE, CALIXTO, MAIA CAMPOS, 2016).

Para a obtenção de dados das pesquisas citadas anteriormente são utilizadas entrevistas com questionários estruturados, validados ou não, bem como análise do discurso. Essas ferramentas são importantes porque fornecem subsídios para encontrarmos correlações entre aspectos mercadológicos, influências culturais, hábitos e exposição a produtos cosméticos. No processo de segmentação, busca-se encontrar ferramentas que dê subsídios para direcionar o produto ao consumidor e as informações obtidas com essas ferramentas são interessantes para essa proposta (PRESS, SIMMS, 2010).

2.8. O MARKETING, O CONSUMO DE COSMÉTICOS E O AUTOCUIDADO MASCULINO

Há um paradigma que ronda o marketing que diz respeito a ele criar a necessidade ou a necessidade criar a oportunidade (SOLOMONS, 2016). É interessante observar essa perspectiva dentro do mercado cosmético segmentado para o público masculino. Muitas das propagandas reforçam os papéis de gênero na busca de vender mais cosméticos, mas sempre voltados para o setor de produtos de higiene (RIBEIRO & SILVA, 2017). Mozdzenski & Aguiar (2016) mostraram em seu estudo sobre algumas publicidades de cosméticos para o público masculino que todas eram focadas no setor de higiene pessoal e tentavam utilizar o humor para trazer um tom mais leve para o consumidor não acostumado com publicidades direcionadas a ele.

Dória (2017) mostrou em seu trabalho que embora tenha se notado uma mudança nas representações de gênero nas peças publicitárias de cosméticos (Natura e Avon) analisadas em seu estudo – principalmente no que diz respeito à representação do homem – ainda existem elementos que remetem aos estereótipos de gênero. Nesse trabalho também foi possível observar que por mais que exista a intenção de propor uma reflexão em torno das diversas maneiras de manifestar a masculinidade, a apresentação das personagens ainda remete à noção do homem tradicional, ou seja, viril, forte, bravo. Esse tipo de análise é importante porque por mais que tenhamos criado a segmentação masculina, ainda parece que ela não reconhece a variedade do “ser homem” – sensível, afetuoso, hétero, gay, trans, dentre outros – reforçando o estereótipo do “homem macho” que é imposto pela tradição e que, na realidade, afasta o consumidor masculino do uso de cosméticos que não sejam de higiene. Se o consumo de perfumaria e produtos de higiene por parte dos homens no Brasil já movimentava mais de 18 bilhões de reais por ano (FORBES, 2020), se as normas de masculinidade não fossem tão limitantes, o setor poderia crescer muito mais com relação à fotoproteção, produtos de cuidados com a pele e até mesmo maquiagem.

Todos esses estudos guiam o entendimento para o público masculino sobre a utilização de cosméticos como algo relacionado somente à higiene, não colocando o homem em posição de autocuidado. Além disso, apesar dos estudos que buscam entender a relação do consumidor com os cosméticos e aqueles com enfoque nas características morfológicas e estruturais da pele masculina em detrimento da feminina, há poucos estudos focados no entendimento da cultura, consumo e como isso afeta, de fato na saúde da pele masculina. A grande maioria dos estudos de eficácia clínica ou sensorial de cosméticos são focados em

público feminino com mais 30 anos. Na literatura há uma escassez para o entendimento do que seria um cosmético para público masculino, especialmente nas áreas de cuidados com a pele e como isso afetaria diretamente na saúde da pele desse segmento.

2.9. O SENSORIAL E AS PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS DE COSMÉTICOS

O marketing parece distante da pesquisa e desenvolvimento de cosméticos, mas isso não é completamente correto. O sensorial, um apelo muito importante para a continuidade e fidelidade do uso de cosméticos, está atrelado à estrutura das formulações cosméticas, as chamadas propriedades físico-mecânicas. Dessa forma, marketing, análise sensorial e P&D precisam caminhar juntos para o sucesso do investimento da formulação cosmética.

A pesquisa e desenvolvimento de cosméticos evoluiu muito nos últimos 30 anos, com o desenvolvimento de novas matérias primas, que melhoram a performance dos produtos cosméticos, bem como de metodologias para avaliação da formulação (INFANTE, MELO & CAMPOS, 2018). O uso de polímeros em formulações cosméticas representou um avanço importante para o setor cosmético uma vez que foi possível aumentar a diversidade de formulações em relação às texturas, sensorial e até mesmo para a melhora da estabilidade (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2019).

O avanço no estudo das propriedades sensoriais de produtos cosméticos foi importante para que fosse possível o desenvolvimento de produtos com propostas sensoriais mais alinhadas ao público masculino. Além disso, o uso de polímero possibilitou a redução da carga oleosa em formulações cosméticas, conseguindo contornar problemas relacionados à pele oleosa, característica ressaltada pelo público masculino como barreira para o uso de cosméticos (INFANTE, CALIXTO E MAIA CAMPOS, 2016). O sensorial de produtos cosméticos é importante para a adesão e uso constante das formulações, garantindo a eficácia do produto (CALIXTO et al, 2020).

As características físico-mecânicas das formulações cosméticas estão intimamente correlacionadas com a escolha das matérias-primas, suas concentrações, bem como com o processo empregado. O estudo dessas propriedades – como viscosidade, textura, consistência, entre outras – é importante porque serve de predição para características sensoriais, além de uma melhor compreensão das características relacionadas à estabilidade de cosméticos (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017). Dessa forma, podemos otimizar processos para a

obtenção de produtos cosméticos mais estáveis e com melhor aceitação entre os consumidores (CALIXTO, INFANTE & MAIA CAMPOS, 2018).

Ainda, a utilização de parâmetros de textura para a otimização de processos de formulação cosmética, bem como compreensão das propriedades de determinadas matérias-primas no sistema, tem sido descrita na literatura, podendo ou não ser acompanhada de desenho experimental estatístico (FOSSA SHIRATA, CAMPOS, 2017; SILVA et al., 2019; LEITE & MAIA CAMPOS, 2019; FERREIRA et al., 2020). Podemos citar também estudos correlacionando o sensorial, a composição, a estabilidade e a eficácia de produtos cosméticos (WATSON et al., 2009; FOSSA & MAIA CAMPOS, 2016; BOGDAN et al., 2017; LEITE & MAIA CAMPOS, 2018).

Formulações semissólidas são caracterizadas por se deformarem quando um estresse lhe é aplicado. Esse estresse está intimamente relacionado às características físico mecânicas de formulações cosméticas (TAI, BAINCHINI & JACHOWICZ, 2014). Além disso, a composição afetará diretamente tais propriedades (DUBUISSON et al., 2018). Ao espalharmos formulações cosméticas, elas tendem a se deformar na superfície da nossa pele e, dessa forma, a depender da composição e, conseqüentemente, da característica físico-mecânica, o sensorial percebido da formulação pode ser alterado, muitas vezes apenas modificando concentrações de matérias-primas (CALIXTO, INFANTE & MAIA CAMPOS, 2018). Outro ponto a ser abordado é que, pensando em formulações fotoprotetoras, o estudo das características físico-mecânicas pode estar correlacionado até mesmo com sua eficácia, não apenas na adesão devido ao sensorial, mas porque essas características afetam a forma como a formulação irá se comportar na superfície da pele e, conseqüentemente, sua eficácia (GASPAR & CAMPOS, 2003; FERREIRA et al., 2020).

Gilbert et al. (2012) mostraram em seu estudo que diferentes polímeros em formulações cosméticas do tipo emulsão podem contribuir de diferentes formas nas características físico-mecânicas. Polímeros de origem sintética costumam trazer firmeza ou consistência de forma mais efetiva aos cosméticos, enquanto as formulações com polímeros de origem natural como a hidroxietilcelulose não interferem tanto nesse aspecto. Isso foi observado em formulações apenas do tipo gel em estudo sobre textura de formulações poliméricas (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2019).

2.10. POLÍMEROS SINTÉTICOS, NATURAIS E OS AMIDOS COMO MODIFICADORES REOLÓGICOS DE PRODUTOS COSMÉTICOS

Se há correlação entre sensorial e características físico-mecânicas é preciso então estudar como substâncias modificadoras reológicas podem afetar – ou não – esses parâmetros.

Uma das questões sobre a utilização de polímeros sintéticos em formulações cosméticas está relacionada com os micros e nano plásticos que podem tornar-se potenciais poluentes. As partículas de plástico usadas nos cosméticos são muito pequenas (geralmente não maiores que cerca de um milímetro, mas podem ser tão pequenas quanto algumas dezenas de nanômetros): muitas são invisíveis a olho nu (BHATTACHARYA, 2016). Dentro dessas categorias de plástico, diferentes tipos de polímeros e copolímeros são aplicados em formulações cosméticas, como os acrilatos ou polietileno. As funções desses materiais nos produtos incluem formação de filme, regulação da viscosidade, condicionamento da pele, estabilização de emulsão e muitos outros, ou seja, estão correlacionados com a estabilidade e o sensorial de formulações cosméticas (LESLIE, 2014). Dessa forma, no desenvolvimento de produtos cosméticos com sensorial agradável ao público masculino e mais sustentáveis é necessária a utilização de polímeros alternativos aos utilizados pela indústria convencional.

Como mostrado anteriormente, muitos polímeros de origem natural não são bons modificadores das características físico-mecânicas e isso pode refletir diretamente na aceitação dos produtos pelos consumidores. Dessa forma, é preciso pesquisar e desenvolver alternativas mais sustentáveis, de menor custo e efetivas aos derivados de plástico que já são utilizados corriqueiramente. Uma alternativa é a utilização de amidos como espessantes e modificadores reológicos de formulações cosméticas, pois esses polissacarídeos são amplamente distribuídos, ocorrem na natureza e são econômicos (AGAMA-ACEVEDO & BELLO-PEREZ, 2017). Tafuro et al. (2020) mostraram em seu estudo que polissacarídeos de origem natural dificilmente atingem as propriedades mecânicas de polímeros acrílicos como o carbômero, que apresentaram maiores valores, variando a concentração. Formulações com polímeros sintéticos costumam apresentar maior quantidade de ligações cross-link, estruturando melhor a formulação final, melhorando seu desempenho.

Amidos são biomoléculas – carboidratos - com capacidade polimérica encontrados como reservatórios de diferentes tipos de plantas. Geralmente estão localizados em tubérculos ou cereais, sendo compostos basicamente por amilose e amilopectina (AP). A quantidade desses dois polissacarídeos varia de acordo com a origem do amido em questão. A amilose é constituída de D-glicopirranose, ligadas por pontes glicosídicas α -1,4, que conferem à molécula

uma estrutura helicoidal e a AP caracteriza-se por ser menos hidrossolúvel do que a amilose, constituída por resíduos de α -glicose ligadas por pontes glicosídicas α -1,4, ocorrendo também ligações α -1,6, que dão a ela uma estrutura ramificada (FRENCH, 1984; SHI & SEIB, 1992).

Os grânulos de amido apresentam birrefringência quando observados sob luz polarizada, o que indica um certo grau de organização e sua adição em cosméticos é amplamente difundida (PASAPANE & SOLAREK, 2001). A parte linear das moléculas de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por pontes de hidrogênio entre grupamentos hidroxila. Alguns fenômenos afetam as propriedades dos amidos. Um deles é a gelatinização, o processo de transformação do amido granular em pasta viscoelástica e isso pode ser interessante do ponto de vista reológico para a aplicação em formulações cosméticas mais estáveis. Durante o aquecimento do amido em presença de água, inicialmente ocorre o inchamento de seus grânulos até temperaturas nas quais ocorre o rompimento deles, com destruição da ordem molecular e mudanças irreversíveis nas suas propriedades (SOUZA & ANDRADE, 2000). A temperatura na qual ocorre este tipo de transformação é chamada de temperatura de gelatinização, sendo dependente da origem do amido (estando relacionada com as concentrações de amilose e AP) (SHI & SEIB, 1992).

Por esse motivo, a utilização de amidos em cosméticos pode ser interessante, entretanto, essas biomoléculas podem ser necessárias em altas concentrações – acima de 20% - em formulações para a formação de redes poliméricas coesas o suficiente para a melhora da estabilidade de cosméticos (VIEIRA et al., 2020). Isso pode ser um problema para a estabilização, tendo em vista que a depender da fonte de amidos, problemas como coalescência podem ser observados. Ainda, segundo Vieira et al. (2020) a utilização de amidos como o de tapioca em formulações cosméticas podem ser associadas a percepção sensorial de frescor.

Dessa forma, uma das possibilidades de melhoria na estabilidade é a utilização de amidos modificados estruturalmente, com capacidade de melhorar as interações entre as cadeias cross-link por exemplo (LEHAMNN et al., 2008). Entretanto, há poucos relatos na literatura sobre a utilização de amidos de diferentes fontes vegetais e possíveis efeitos sinérgicos na textura e estabilidade de formulações cosméticas.

Por apresentarem a propriedade de formação de rede polimérica, os amidos podem se depositar na superfície da pele e, dessa forma, atuarem como agentes modificadores de sensorial (DE MELO & MAIA CAMPOS, 2019; FAUCHEUX et al., 2020). Além disso, podemos utilizar polímeros em formulações cosméticas com a intenção de reduzir a quantidade de parte

oleosa em formulações, indo de encontro com desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino de pele oleosa (SHENG, 2008).

2.11. A PELE OLEOSA, OS COMEDÕES E O ESTUDO DE EFICÁCIA DE PRODUTOS COSMÉTICOS NO PÚBLICO MASCULINO

Uma das principais reclamações do público brasileiro – especialmente o masculino – com relação à pele é a produção excessiva de sebo (INFANTE, CALIXTO, MAIA CAMPOS, 2016). Em situações de perfeito equilíbrio entre a produção e os requisitos de sebo, a pele apresenta boa aparência. É confortável, bem hidratada, limpa e fácil de decorar com cosméticos e não tão fácil de irritar. Em situações de déficit lipídico, a pele apresenta-se seca, áspera, sem brilho, eritematosa e escamosa, podendo ser acompanhada de quadros de coceira. Os produtos de maquiagem se espalham de maneira desigual e a irritação é comum. Em situações de excesso de conteúdo lipídico, a pessoa se sente desconfortável, com a pele oleosa, brilhante e pode atrapalhar no desempenho de produtos cosméticos. Sob essa condição, a pele pode ser afetada por acne, rosácea ou ambas. Em suma, o excesso de óleo é cosmético e dermatologicamente indesejável. Como resultado dos avanços no entendimento da fisiologia das glândulas sebáceas, da bioquímica e metabolismo lipídico epidérmico e da função dos lipídios da superfície da pele, estão sendo desenvolvidas estratégias para equilibrar as necessidades da pele com seus requisitos lipídicos ideais (ABRAMOVITS & GONZALEZ-SERVA, 2001; de MELO, MAIA CAMPOS, 2018; LEITE, MAIA CAMPOS, 2020; MAIA CAMPOS et al., 2019).

Os lipídios secretados por essas glândulas têm várias funções, como manutenção da integridade da barreira lipídica cutânea, transporte de antioxidantes para a superfície da pele, atividade antimicrobiana e atividades pró e anti-inflamatórias, sendo responsáveis por retardar os processos de envelhecimento cutâneo. Ainda, estão relacionados com a geração de odor corporal e feromônios. Embora sua função seja importante, os casos de hiperseborréia causam grande desconforto e devem ser tratados (ZOUBOULIS et al., 2014; MAIA CAMPOS et al., 2019).

O funcionamento das glândulas sebáceas também está relacionado a alterações na fisiologia dos folículos, como por exemplo a hiperqueratinização que pode levar à formação de sinais clínicos típicos da pele oleosa, como poros dilatados e comedões. Esses comedões, se não tratados desde cedo, podem evoluir a lesões inflamatórias acneicas (pápulas, pústulas e cistos de acordo com o grau de acne). Por isso é importante o desenvolvimento de produtos cosméticos para a pele com tendência a acne pois agindo nos graus iniciais, as chances de

formação de lesões inflamatórias são reduzidas (ZOUBOULIS, 2014; ZOUBOULIS et al., 2014; MAIA CAMPOS et al., 2019).

O comedão fechado é caracterizado por acúmulo de células mortas, sebo e proteínas que bloqueiam a abertura do folículo e aparecem como pequenas saliências esbranquiçadas abaixo da superfície da pele, enquanto um comedão aberto é uma lesão não inflamatória preenchida com excesso de óleo, proteína e células mortas da pele (MAIA CAMPOS et al., 2019). Essa oclusão é importante para a que a bactéria causadora da acne (*C. acnes*) encontre um ambiente propício para a sua proliferação, uma vez que apresenta metabolismo anaeróbico (DRÉNO et al., 2018).

Uma das principais alterações observadas com relação à pele masculina jovem é o surgimento de lesões que caracterizam a acne. Ela é caracterizada por um processo inflamatório crônico das glândulas sebáceas e dos folículos pilosebáceos. Por estar relacionada com o aumento de oleosidade e processo de hiperqueratinização – criando um ambiente propício para a proliferação de *Cutibacterium acnes* – o desenvolvimento de produtos cosméticos que auxiliem no controle da evolução é um importante fator para graus mais leves da doença. É importante ressaltar que os hormônios andrógenos como a testosterona estimulam a produção sebácea e para os homens isso é fator importante na evolução da fisiopatologia da acne (ZOUBOULIS, 2014; DRÉNO et al., 2018).

No entanto, embora a acne seja principalmente um distúrbio da adolescência, pesquisas atuais indicam que a prevalência de pacientes adultos com acne está aumentando (MCCARTY, 2016; KAMINSKY et al., 2019). De acordo com o tempo de início, são reconhecidos dois subtipos de acne adulta: persistente e tardia. A acne persistente é uma continuação ou recidiva da doença desde a adolescência até a idade adulta e meia-idade, enquanto o tipo de início tardio envolve pacientes com 25 anos ou mais de idade que não foram afetados anteriormente pela acne vulgar (SKROZA et al., 2016).

Como dito anteriormente, uma das características que levam ao desenvolvimento de uma lesão de acne é a hiperqueratinização da parede folicular. As células desta camada mostraram ter membranas celulares espessadas e sua integridade celular foi mantida com muitas camadas de células queratinizadas compactadas juntas. Isso era diferente da natureza dessas células encontradas nos folículos normais, que perdem sua integridade e são descartadas como grupos únicos ou menores de células. Esse processo dá origem ao tampão "córneo", formado dentro do ducto folicular, sendo um dos estágios iniciais da patofisiologia da acne (FARRAR & INGHAM, 2004). Dessa forma, o desenvolvimento de produtos cosméticos que consigam

atuar nesse estágio da acne, antes de desencadear o processo inflamatório, é uma forma de auxiliar para que reduzir o desenvolvimento de lesões inflamatórias – as chamadas pápulas e pústulas.

Há vários mecanismos importantes relacionados com o surgimento da acne: o primeiro deles é devido ao aumento de andrógenos circulantes, menos frequente, como observado em algumas síndromes. O segundo mecanismo, encontrado na acne vulgar, ocorre pela ação periférica do andrógeno. Na pele acnéica, há um aumento nessa produção do hormônio ativo, aumentando a secreção sebácea que pode ocasionar a oclusão dos folículos (ZOUBOULIS, 2004).

Bactérias do gênero *Cutibacterium* tem papel na patogênese da acne. Com a retenção sebácea, esse microrganismo anaeróbico se prolifera e hidrolisa os triglicerídeos, liberando ácidos graxos que são irritantes para a parede folicular e que induzem a queratinização. Tudo isso pode culminar em processo inflamatório no folículo (CHRISTENSEN et al., 2013; ZEEUWEN et al., 2013). Por isso é importante compreender o processo que envolve a formação da acne não-inflamatória, os comedões, auxiliando para a obtenção de dados que forneçam suporte para o desenvolvimento de produtos cosméticos, reduzindo a possível progressão para o estágio inflamatório.

O desbalanço lipídico também está relacionado com o surgimento da acne, por exemplo, quando há a falta de ácido linoleico na referido região há uma maior tendência a existir uma descamação celular, desta forma há uma perda da função barreira da pele. Com a perda desta função é importante ressaltar que a penetração de organismos e lipídios pró-inflamatórios acabam acarretando inflamação e infecção, o que pode resultar em casos de acne mais severos (DAS, 2014).

O metabolismo de carboidratos exerce determinado papel na hiperqueratinização folicular: a insulinemia influencia as concentrações de IGF-1 e IGFBP-3 (mediadores relacionados com a inflamação), regulando diretamente a proliferação de queratinócitos. A hiperinsulinemia eleva a IGF-1 livre e reduz a IGFBP-3, contribuindo para a hiperproliferação de queratinócitos no folículo (COSTA, 2008).

É importante ressaltar que a infecção por *C. acnes* também apresenta como via inflamatória a produção de IGF-1, por exemplo, desta forma, apesar das causas serem diferentes, elas acabam se complementando e, muitas vezes, uma influencia diretamente na outra. É o caso também da ingestão de determinados suplementos alimentares como *Whey*

Protein (muito utilizado pelo público masculino). A ingestão destes suplementos está também relacionada com o aumento de IGF-1, estimulando a lipogênese de glândulas sebáceas, bem como a inflamação folicular e a estimulação androgênica (MCCARTY, 2016).

Os tratamentos atuais compreendem uma variedade de medicamentos tópicos e sistêmicos, com o objetivo de diminuir a produção de sebo, inibir o crescimento bacteriano, reduzir a inflamação e/ou normalizar a queratinização nos folículos. Os tratamentos orais atuais são geralmente bem-sucedidos; no entanto, seus efeitos colaterais geralmente resultam em desconforto do paciente e, no caso da isotretinoína, podem envolver até dano hepático (SCHEINFELD, 2007). Dessa forma, a utilização ou não desse tipo de terapia deve ser bem pensada pelos profissionais médicos, sendo que para quadros mais leves outras terapias devem ser aplicadas (VALLERAND et al., 2018). Outra forma de tratamento consiste na utilização de antimicrobianos tópicos, geralmente o tratamento preferido e exercem um efeito supressor nos patógenos bacterianos envolvidos na acne; no entanto, eles são limitados em seu uso devido ao desenvolvimento de resistência (WALSH, EFTHIMIOU & DRÉNO, 2016). Isso enfatiza a importância de descobrir tratamentos alternativos para a acne, especialmente em sua fase não inflamatória que pode ser contemplado pela utilização de cosméticos, mantendo a homeostase cutânea e reduzindo a formação de acne não inflamatória e posterior evolução do quadro clínico (ORCHARD et al., 2018). Os cosméticos não são os principais agentes no tratamento da acne, mesmo não inflamatória, mas podem ser importantes coadjuvantes e pesquisas precisam ser conduzidas nesse campo dermatológico.

Apesar da importância mercadológica acerca do público masculino e o consumo de cosméticos, na literatura há poucos estudos que se preocupam em entender como agem determinados cosméticos em populações masculinas. A grande maioria desses trabalhos está relacionada à alopecia androgenética, que acaba se valendo de medicamentos para o seu tratamento (SISTO, BUSSOLETTI & CELLENO, 2013; ZHU et al., 2020).

2.12. A UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM PRODUTOS COSMÉTICOS E SUA SEGURANÇA E EFICÁCIA

A utilização de terapias alternativas como, por exemplo, óleos essenciais têm ganhado destaque dentro da dermatologia, especialmente com o que diz respeito à acne. Entretanto há ainda pouca evidência sobre a ação desses compostos na pele, sobre sua eficácia, possível perturbação dos lipídeos da barreira cutânea e especialmente com relação ao desenvolvimento de produtos cosméticos seguros e eficazes.

O termo "óleos essenciais" refere-se a extratos voláteis de plantas com aromas distintos (ou seja, a chamada "essência" da planta). Os óleos essenciais podem ser usados de várias maneiras, como misturado em gel, composto em uma pasta ou spray, ou aplicado via banho, massagem ou inalação (LERTSATITTHANAKORN et al., 2006). Entretanto, em produtos para o uso prolongado na pele há pouca evidência clínica de sua eficácia e principalmente com relação à sua segurança.

Na literatura, o termo "óleo essencial" pode ser encontrado incorretamente em muitos produtos extraídos de produtos de origem vegetal por métodos diferentes da destilação ou prensagem a frio. Absolutos, águas aromáticas e concentrados são produtos que são produzidos a partir de material vegetal, mas não são óleos essenciais. Esses produtos são usados como parte de um produto cosmético ou como produto cosmético per se, como águas aromáticas. Águas aromáticas, também conhecidas como hidrolatos, são soluções aquosas dos óleos essenciais que permanecem após a destilação a vapor do material vegetal (por exemplo, "água de rosas") (SARKIC & STAPPEN, 2018).

Podemos extrair óleos essenciais através de destilação a vapor e o método mais famoso para flores é o enfleurage. A destilação a vapor é considerada não adequada para produtos obtidos de algumas flores pois contêm compostos sensíveis à alta temperatura. Absolutos são produtos obtidos principalmente a partir de concretos, resinóides, extratos de fluidos supercríticos ou pomadas usando etanol como solvente através da *enfleurage*. Esses produtos não contêm apenas fragrâncias voláteis, mas todos os componentes lipofílicos e alguns compostos lipídicos. Absolutos são mais utilizados na indústria de fragrâncias e perfumes, uma vez que os compostos lipídicos podem auxiliar para a fixação do perfume na pele (STICHER, HEILMANN & ZÜNDORF, 2015). Todo óleo essencial possui em sua composição diferentes terpenos e essas moléculas são marcados importantes para o controle de qualidade do produto.

Óleos essenciais apresentam algumas substâncias que, sabidamente, podem ser irritantes como o linalol. Das 26 substâncias com potencial alergênico estabelecidas pela União Européia, 18 são encontradas em óleos essenciais (SARKIC & STAPPEN, 2018). Entretanto a literatura carece de estudos mais aprofundados sobre penetração e ação dessas substâncias ativas na barreira da pele, bem como compatibilidade cutânea.

O óleo essencial de lavanda é um líquido límpido, incolor a amarelo pálido com um odor característico que é extraído por destilação a vapor dos topos floridos do *Lavandula angustifolia* Mill. De acordo com a norma ISO, o óleo deve conter acetato de linalil (25-47%), linalol (máx. 45%), terpinen-4-ol (máx. 8%), cânfora (máx. 1,5%), limoneno (máx. 1%) e 1,8-

cineol (máx. 3%) (ISSO 3515). É conhecido por possuir atividade antioxidante, antifúngica e antibacteriana. Na aromaterapia é utilizado para reduzir sintomas de estresse, estando relacionado com bem-estar (CAVANAGH & WILKINSON, 2005). Kazemi et al. (2020) mostraram em seu estudo que uma nanoemulsão combinando óleo essencial de lavanda e licorice apresentou uma melhora na cicatrização de queimaduras em ratos. Cardia e colaboradores (2018) apresentaram em seu estudo que a utilização de óleo essencial de lavanda pode reduzir a resposta inflamatória aguda da pele. BIAŁOŃ et al. (2019) mostraram em seu estudo que a utilização de óleo essencial de lavanda pode ser interessante para o controle da microbiota da pele.

Outro óleo essencial muito estudado é o de *Eucalyptus globulus*. Esse óleo essencial apresenta cerca de 70% (v/v) de eucaliptol. Ele apresenta atividade anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antioxidante e antifúngica bem descritas na literatura (DHAKAD et al., 2018). Por possuir alta atividade antioxidante e auxiliar na recuperação de queimaduras, Stafa et al. (2018) propuseram a utilização de óleo essencial de eucalipto para combater os danos causados por agressões ambientais como poluição. Park et al. (2018) mostraram em seu estudo que a utilização de óleo essencial de eucalipto pode auxiliar para reduzir os danos causados pelo fotoenvelhecimento da pele, estimulando a produção de colágeno em testes in vitro, além de reduzir a inflamação aguda causada pelo UVB.

O óleo essencial de tangerina (*Citrus reticulata*) é rico em limoneno e apresenta alta atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica (MANDAL & MANDAL, 2016). Não é muito utilizado em produtos cosméticos de uso tópico, porém há estudos que mostram que a utilização de formulações com esse óleo essencial pode apresentar uma boa atividade nos parâmetros de hidratação da pele (KHAM, ALI & ALAM, 2010). Kwangjai et al. (2020) mostraram em seu estudo que esse óleo essencial apresenta uma relação com efeito hipnóticos, também podendo ser um interessante ingrediente para a indústria cosmética utilizar pensando no bem-estar.

Interessante ressaltar que há estudos e revisões na literatura focando no tratamento da acne inflamatória utilizando óleos essenciais e em destaque ao de *Melaleuca alternifolia*, com principal componente sendo o terpinen-4-ol, mas há quase nenhum relato de sua atividade na barreira hidrolipídica da pele, algo muito importante para a pele acneica (DECKER & GRABER, 2012; CHULAROJANAMONTRI et al., 2014; HAMMER, 2015). Além disso, a maioria dos estudos vale-se de concentrações de 5% de óleo essencial de melaleuca, uma quantidade alta que pode não ser bem tolerada pela pele (HAMMER, 2015). Kim & Chin (2013)

mostraram em seu estudo que quando aplicados juntos, os óleos essenciais de lavanda e melaleuca, duas vezes por dia e depois lavados houve uma redução no número de lesões inflamatórias após 4 semanas. Entretanto, mais uma vez, não vemos discussões acerca da função barreira da pele, essencial para a manutenção das características da pele.

Óleos essenciais são potencialmente irritantes, porém também podem apresentar uma função interessante para auxiliar na penetração de substâncias ativas através da pele, melhorando assim a eficácia da terapia (HERMAN & HERMAN, 2015). Southwell, Freeman e Rubel (1997) demonstraram em seu estudo que o óleo essencial de melaleuca não é irritante, mesmo em altas doses, mas dos 25 participantes, 3 apresentaram uma reação alérgica a determinados componentes (não majoritários) do óleo essencial.

Deyno et al. (2019) mostraram em sua revisão sistemática e meta-análise que óleos essenciais podem ser alternativas para o tratamento da acne em quadros mais brandos. Em outro estudo, 0.74% (m/m) de óleos essencial de *Origanum vulgare*, 3.15% (m/m) de óleo essencial de *Myrtus communis* L. e 0.025% (m/m) de tretinoína em uma composição cosmética apresentou resultado satisfatório na diminuição de lesões inflamatórias e nos efeitos adversos da tretinoína na pele (MAZZARELLO et al, 2020). Enshaieh et al. (2007) apresentaram em seu trabalho duplo cego e placebo-controle que a utilização de óleo essencial de *M. alternifolia* a 5% em acne leve a moderada foi até cinco vezes melhor na redução dos sinais clínicos.

Com relação a estudos focados no desenvolvimento de produtos cosméticos com óleos essenciais, há pouca literatura que mostre o impacto desses componentes em parâmetros de textura e reologia, por exemplo (JOSHI & PAWAR, 2017). A maioria desses estudos visam aumentar a estabilidade do óleo essencial, reduzindo sua volatilidade, através do desenvolvimento de nanoemulsões e nanopartículas (BILIA et al., 2014).

Dentre todos os óleos essenciais utilizados, para a acne ganha-se destaque o de *Melaleuca alternifolia*, porém outros tem ganhado espaço como, por exemplo, o de orégano (TALEB et al., 2018). A utilização de óleos essenciais, apesar de ser uma prática popular, carece de evidência e vários estudos precisam ser feitos, especialmente levando em consideração modelos *ex vivo* e *in vivo*. Isso é importante porque o conhecimento de como os óleos essenciais perturbam – ou não – a barreira da pele, além do entendimento do perfil de penetração desses óleos ainda é limitado. Entretanto, esses estudos podem ser cruciais para entendermos as limitações e aplicações de modelos *in vitro*. Por exemplo, se um óleo é considerado citotóxico em cultura celular – modelo *in vitro* – através de estudos com modelos *ex vivo* – orelha de

porco, por exemplo – podemos entender se há a penetração através do estrato córneo que, de fato, possa afetar os queratinócitos.

Os óleos essenciais podem apresentar problemas de estabilidade causados pelo contato direto da atmosfera com os terpenos. Além disso, os terpenos podem ser voláteis e, em formulações cosméticas, podem evaporar, reduzindo a ação do referido cosmético. A utilização de sistemas de liberação controlada como nanoemulsões pode ser uma forma inteligente de aumentar a estabilidade desses componentes e melhorar a veiculação dos óleos essenciais, bem como a penetração através do estrato córneo (PAVONI et al. 2020).

2.13. METODOLOGIAS *IN VITRO*, *EX VIVO* E *IN VIVO* E O ESTUDO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS UTILIZADAS EM COSMÉTICOS

Podemos utilizar diferentes metodologias para o estudo da segurança e eficácia de cosméticos. Cada uma delas apresenta suas vantagens e limitações e precisam ser selecionadas de acordo com a necessidade dos objetivos propostos. Podemos encontrar métodos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*.

Um ensaio *in vitro* é um ensaio fora de um organismo vivo e envolve normalmente células, tecidos ou órgãos isolados. Por exemplo, podemos utilizar diferentes modelos de queratinócitos para testes de segurança de cosméticos. Nesse caso estamos testando a substância diretamente na célula. Podemos utilizar dados obtidos a partir de ensaios *in vitro* para cumprir, total ou parcialmente, requisitos de informação que, de outra forma, necessitariam de dados obtidos a partir de ensaios em organismos vivos (ensaios *in vivo*). Outro tipo de ensaio *in vitro* é utilizando pele reconstituída, uma vez que houve a extração de queratinócitos para a reconstrução do epitélio em laboratório (TAVARES et al., 2020). A complexidade do sistema de avaliação não tem necessariamente relação com o fato de ser *in vitro*, *ex vivo* ou *in vivo*.

É importante também a utilização de estudos *in vitro* para a identificação de possíveis agentes cito e/ou fototóxicos, dependentes ou não da concentração (CANNAS et al., 2016). Esse assunto é mais explorado e tem muitas aplicações importantes como, por exemplo, a busca por novas moléculas capazes de atuarem em diferentes tipos de câncer (OLIVEIRA et al, 2015). Para produtos cosméticos torna-se importante tal pesquisa na busca de produtos que sejam seguros e eficazes. Para óleos essenciais a fototoxicidade é importante porque muitos desses compostos apresentam certa atividade ao entrarem em contato com a luz solar, como o óleo de bergamota. Essas informações podem ser cruciais no momento de informar ao consumidor

como e quando utilizar o produto cosmético (KEJLOVÁ, 2007; KEJLOVÁ, 2010; BINDER et al., 2016).

Métodos *ex vivo* são aqueles que se utilizam de partes de tecidos para a avaliação de substâncias e que apresentam certa similaridade com o modelo humano. Para isso é necessário que o modelo em questão tenha sido validado e mostrado validação com o sistema ao qual representa com relação ao humano. Na dermatologia, por exemplo, utilizam-se parte de pele oriundas de cirurgia ou o modelo de orelha de porco que apresenta grande similaridade com a pele humana na questão de organização da barreira cutânea, por exemplo (HAAG et al., 2010; ARNDT et al., 2013).

Com relação ao estudo *in vivo*, estamos falando diretamente do estudo em humanos ou animais em determinados casos e a observação dos seus efeitos da substância aplicada. Para o estudo com produtos cosméticos não é mais permitido o uso de animais no Brasil, Europa e Estados Unidos (VINARDELL & MITJANS, 2017).

2.14. O FOTOENVELHECIMENTO CUTÂNEO E A UTILIZAÇÃO DE PROTETOR SOLAR ENTRE HOMENS

É inegável a importância da radiação solar para a nossa pele em uma exposição controlada. As radiações provenientes do Sol são responsáveis por interagir com os cromóforos presentes em nossa pele e catalisar reações importantes para a biologia cutânea e até mesmo a nível sistêmico como é o caso da vitamina D. Entretanto, essa exposição não pode ser prolongada de forma desprotegida, o que pode causar um desbalanço no estresse oxidativo cutâneo, tornando os efeitos deletérios mais proeminentes do que os efeitos benéficos (DE ASSIS et al. 2021). A exposição prolongada, especialmente desprotegida, pode levar ao câncer de pele e processo de fotoenvelhecimento (KRUTMAN et al. 2017). Isso é dependente de condições sócio culturais como acesso a proteção solar, normas masculinas e de fatores geográficos (McKENZIE et al. 2019; INFANTE et al. 2021).

O fotoenvelhecimento é caracterizado por um processo de envelhecimento diferente do que é observado no intrínseco (MERCURIO et al., 2016). A pele normalmente envelhecida que não foi exposta cronicamente à luz solar é caracterizada por rugas generalizadas, aparência seca e fina e queratoses seborreicas, com redução nos parâmetros viscoelásticos da pele. A pele fotoenvelhecida também, mas em um grau mais elevado e a aparência das rugas geralmente é um pouco diferente. Há também questões relacionadas com a presença de telangiectasias e distúrbios no padrão de pigmentação como agravamento do melasma (FLAMENT et al., 2013).

No entanto, as alterações induzidas pela exposição crônica ao sol podem ocorrer bem antes dos sinais clínicos de envelhecimento da pele, causando alterações na morfologia da pele que ainda não são perceptíveis ao olhar clínico (SHIRATA et al., 2019). Há uma grande variação interindividual com relação às características clínicas da pele fotoenvelhecida, dependendo principalmente de fatores como tipo de pele, natureza da exposição ao sol, penteado, vestuário, condições socioeconômicas, cultura e hábitos (BERNEBURG et al., 2000).

Outro aspecto que ocorre na pele fotoenvelhecida é a hiperqueratose do estrato córneo, uma forma de tentar reduzir os danos causados pela exposição solar desprotegida. A epiderme pode ser hipertrófica, atrófica ou inalterada (BERNEBURG et al., 2000). A espessura da membrana basal é aumentada, possivelmente refletindo os danos aos queratinócitos basais e a distribuição dos melanócitos ao longo da membrana basal é irregular e essas células variam em tamanho, dendricidade e pigmentação (BREATHNACH & WYLLIE, 1964; MERCURIO et al., 2016). Na derme, há um gradiente de dano progressivo da exposição aos raios UV, especialmente com o que diz respeito às fibras de colágeno, não sendo um processo totalmente homogêneo. Podemos observar também a presença de elastose solar, especialmente na região da derme papilar. Há também a deposição de fibras de elastina e glicosaminoglicano degradadas, o que reduz os parâmetros de viscoelasticidade da pele (BERNEBURG et al., 2000).

Basicamente o que podemos observar é que o dano cutâneo causado pela exposição solar desprotegida e de forma crônica não é um processo homogêneo, dependendo de fatores individuais e especialmente com relação aos hábitos, cultura e sazonalidade. O estudo das características morfológicas e estruturais da pele fotoenvelhecida ganhou maior destaque na última década com a utilização de técnicas de microscopia não invasiva para a avaliação das alterações causada pela exposição desprotegida.

Longo et al. (2013) utilizou em seu trabalho uma metodologia não invasiva para a avaliação do processo de fotoenvelhecimento da pele: a microscopia confocal de reflectância a laser. É possível, com a utilização desse aparelho, acessar o estrato córneo, a epiderme e a derme papilar – mais superior – sem a necessidade de cortes para biópsia, por exemplo. Esse trabalho é o guia principal para entendermos, através dessa microscopia, como avaliar o fotoenvelhecimento.

O trabalho contou com 75 participantes, divididos em 5 grupos de acordo com a idade – variando entre jovens com menos de 35 anos até pessoas com mais de 65 anos. É importante ressaltar que aqui foram avaliados homens e mulheres, sem recortes de sexo biológico. Os autores queriam saber sobre como avaliar o fotoenvelhecimento utilizando a microscopia

confocal de reflectância comparando com biópsia de 4 participantes. Todos os voluntários foram avaliados por dermatologistas para a obtenção do score de fotoenvelhecimento visível e os resultados foram comparados com as imagens obtidas pelo confocal. Foram avaliados 8 parâmetros na microscopia confocal:

- Estrato córneo: espessura e aparência romboidal
- Epiderme viável: espessura, padrão de organização celular como favo-de-mel e a pigmentação mosqueada (basal)
- Derme superior e junção derme-epiderme: glândulas sebáceas, as papilas e suas qualidades e a arquitetura da matriz derma-papilar.

Um dos achados mais interessantes está relacionado com a rede de colágeno que tende a diminuir o brilho conforme o dano solar, mas quando chega na situação de elastose, há um aumento progressivo desse brilho, porém com diferente organização estrutural e morfológica. Nesse trabalho foi possível observar correlações com o estudo de biópsia e, dessa forma a metodologia pode ser aplicada para outros estudos.

Shirata et al. (2019) mostraram em seu estudo que os sinais de fotoenvelhecimento da pele facial de mulheres jovens estão mais relacionados à presença de hiperpigmentações cutâneas, alterações no formato das papilas na JDE e alterações na estrutura do colágeno. Além disso, as alterações observadas para a o público feminino de pele madura são basicamente as mesmas, porém mais acentuadas.

Wurm et al. (2012) apresentaram em seu estudo com homens e mulheres que a utilização do confocal foi interessante para revelar o padrão arquitetural e as características morfológicas da pele devido ao envelhecimento cronológico e exposição cumulativa aos raios UV. Nesse estudo comparou-se os sítios de exposição solar, ou seja, o antebraço dorsal, com sítios de menor exposição como a parte interna do antebraço. Foi observado que as partes mais expostas apresentavam níveis mais altos de desorganização das papilas localizadas na junção derme-epiderme.

A grande maioria dos estudos que buscam entender o fotoenvelhecimento utiliza o público masculino em sua casuísta, entretanto, os estudos não se importam em entender a fundo as influências dos hábitos de fotoproteção dessa população. Além disso, há nenhuma literatura que mostre a relação da influência cultural nos hábitos de fotoproteção e conseqüente influência na saúde e qualidade da pele. Muitos dos estudos com essa finalidade – ou parecida – focam

principalmente no público feminino (MARTINI et al., 2017; MARTINI & MAIA CAMPOS, 2018; SHIRATA et al., 2019).

A revisão apresentada até aqui já enfatizou que há uma resistência do público masculino em utilizar produtos cosméticos e isso reflete nos hábitos de fotoproteção. Há também poucos estudos que correlacionem os hábitos com os impactos na saúde da pele do homem, bem como a importância da apresentação do homem na mídia utilizando cosméticos e especialmente a fotoproteção.

2.15. A PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FOTOPROTETORES

A pesquisa e desenvolvimento de formulações fotoprotetoras é um ramo que vem se desenvolvendo continuamente desde os anos 90. De formulações com baixo fator de proteção solar, com apenas proteção UVB e sensorial pesado, passamos para formulações com diferentes sensoriais, com diferentes propostas, com proteções que englobam todo o espectro da radiação UV, luz visível e até mesmo infravermelho (ZASTROW et al., 2017).

A proteção UVB está relacionada com o fator de proteção solar (FPS) e a proteção UVA com o PPD (Persistent Permanent Darkening) que precisa sempre ser, ao menos, 1/3 do valor obtido para o UVB. Todos os testes são realizados com quantidade padronizada de produto (2mg/cm²). Esses valores estão relacionados com a concentração e tipo de filtros UV que são selecionados para a formulação. Além disso, fotoprotetores precisam proteger, pelo menos, 90% do espectro UV (ZATROW et al., 2017).

Toda formulação fotoprotetora apresenta em sua composição filtros UV que são os responsáveis pela proteção dos raios UV oriundos do Sol. Esses filtros podem ser classificados como orgânicos ou inorgânicos. Os filtros orgânicos são em maior número e são moléculas com capacidade de absorver e estabilizar os fótons oriundos da radiação solar. Cada um desses filtros apresentam uma faixa de absorção no UV, sendo necessária muitas vezes a utilização de mais de um deles em uma formulação para proteger todo o espectro UV (SERPONI et al., 2007).

Compostos minerais como dióxido de titânio e óxido de zinco são usados em cosméticos como bases, pós, sombras para os olhos e lápis e são os conhecidos filtros inorgânicos. De fato, o dióxido de titânio (TiO₂) é retratado como filtro solar desde 1952 (SMITHERS & WOOD, 1952). Os filtros inorgânicos atuam por meio de absorção, espalhamento e reflexão da luz solar. Essas propriedades dependem do índice de refração, tamanho das partículas, dispersão na base de emulsão e espessura do filme formado (SERPONI et al., 2007). Os filtros inorgânicos podem também atuar na proteção da luz visível, entretanto, o tamanho de partícula precisa ser grande

o suficiente para atuar como pigmento, o que causa desconforto para quem utiliza o fotoprotetor, por conta do resíduo branco. Os fotoprotetores mais modernos que constam com esse tipo de filtro solar reduzem muito o tamanho da partícula, melhorando o desconforto com relação ao sensorial, mas comprometendo a proteção da luz visível (BOUKARI et al., 2015).

Lademann et al. (2006) mostraram em seu estudo que as partículas muito pequenas de filtros inorgânicos podem ser estocadas em folículos em períodos de até uma semana. Essa informação é importante porque se a pele mantém as partículas estocadas, o real valor de fotoproteção pode ser diferente, porém o mais importante está relacionado com processos que possam causar alergia devido à exposição prolongada. Dessa forma, é preciso entender que fotoprotetores híbridos – associando filtros químicos e físicos – podem ser uma boa opção para reduzir também esse problema.

Podemos associar filtros orgânicos e inorgânicos por conta de sua ação sinérgica (LADEMANN et al., 2005). Os filtros particulados podem aumentar o *scattering*, desviando a luz e aumentando o caminho que o fóton fará. Dessa forma, as chances de ele ser absorvido pelos filtros químicos e/ou serem refletidos por ação secundária pode ser aumentada (MEINKE et al., 2011).

Idealmente esses filtros devem ficar na superfície da pele e não penetrarem mais do que o estrato córneo. WEIGMANN (2005) mostrou em seu trabalho que através de técnicas de *tape stripping* é possível analisar a penetração de filtros UV no estrato córneo e que para uma formulação bem elaborada de fotoprotetores eles não penetram mais do que 30% o estrato córneo – correspondente aos sulcos observados na superfície do estrato córneo.

A proteção solar, como mostrado acima, está relacionado com a concentração de filtros UV de um fotoprotetor, porém não apenas com isso. Ação sinérgica entre filtros, propriedades ópticas, melhora na formulação cosmética e a utilização de moléculas capazes de estabilizar filtros solares e/ou auxiliarem na fotoproteção são formas inteligentes de melhorar a eficácia das formulações fotoprotetoras (HUNTER & TREVINO, 2004). Ainda, podemos utilizar nanopartículas que auxiliam na estabilização dos filtros (NIKOLIC et al., 2011).

Não existe na literatura um estudo que enfoque no desenvolvimento de fotoprotetores para o público masculino. Isso porque a radiação solar irá afetar a pele independente do sexo biológico. O desenvolvimento de um fotoprotetor para o público masculino é um desdobramento do marketing. Entretanto, no desenvolvimento de formulações fotoprotetoras

podemos levar em consideração aspectos com relação aos comportamentos observados por esse grupo e como isso afeta na saúde da pele e aplicar ao desenvolvimento.

2.16. A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, AS PROPRIEDADES ÓPTICAS DE FOTOPROTETORES E A PROTEÇÃO DA LUZ VISÍVEL E INFRAVERMELHO

A proteção da luz visível utilizando fotoprotetores e/ou produtos cosméticos com óxido de ferro – ou seja, com cor – já é bem estabelecida na literatura e pode auxiliar para a redução de hiperpigmentação ou agravamento do melasma (MARTINI & MAIA CAMPOS, 2018).

Entretanto, a utilização de produtos com cor pode ser um inconveniente para muitos consumidores, especialmente quando falamos do público masculino que já enfrenta problemas para a utilização dos fotoprotetores convencionais. Dessa forma, o desenvolvimento de fotoprotetores que apresentem capacidade antioxidante pode ser uma forma de proteger a pele em um espectro que abrange também a luz visível e a infravermelho.

Associar antioxidantes às formulações fotoprotetoras é uma prática antiga, porém nos últimos dez anos têm ganho especial atenção por conta das evidências para a proteção contra radiação visível e infravermelho.

Mann et al. (2020) demonstrou em seu estudo que a utilização de molécula antioxidante em fotoprotetores reduziu a produção de radicais livres pela pele quando irradiada em diferentes comprimentos de onda. Souza e colaboradores (2017) observou o mesmo parâmetro.

É importante também estudar as propriedades ópticas dos fotoprotetores pois como observado no trabalho de Meinke et al. (2011), apesar de possuírem fatores de proteção de radicais livres, formulações que apresentavam melhores *scaterrings* acabavam por reduzir mais o estresse oxidativo a que a pele era exposta.

2.17. O PERFIL DE PERMEACÃO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS USANDO TAPE STRIPPING E ESPECTROSCOPIA RAMAN ACOPLADA A MICROSCOPIA CONFOCAL DE REFLECTÂNCIA A LASER

Há várias metodologias para a compreensão do perfil de permeação de substâncias no estrato córneo como por exemplo, tape stripping que consiste na retirada de camadas do estrato córneo utilizando-se fita adesiva. É possível retirar várias fitas para um mesmo local e observar o quanto determinada substância penetrou. Essa medida pode ser feita diretamente com espectrofotômetro adequado ou extraindo o conteúdo da fita (WEIGAMANN et al., 2005). Para a compreensão de penetração de filtros UV podemos utilizar essa metodologia e em casos

duvidosos podemos associar a metodologias mais robustas como a microscopia RAMAN (WEIGAMANN et al., 2005; SOUZA et al., 2017).

Entretanto, para substâncias voláteis como óleos essenciais podem encontrar alguns problemas metodológicos para sua realização (ESCOBAR-CHAVEZ, 2008). Podemos utilizar outras metodologias mais modernas e menos invasivas, como a espectroscopia Raman acoplada a microscopia confocal de reflectância a laser (CHOE, LADEMANN & DARVIN, 2015a). Essa metodologia já descreveu a utilização de óleos minerais e vegetais para o uso na pele, além de ser possível utilizá-la para analisar a presença de substâncias ativas em diferentes camadas do estrato córneo e se chegam até a epiderme viável (CHOE, LADEMANN & DARVIN, 2014; CHOE, LADEMANN & DARVIN, 2015a; CHOE, LADEMANN & DARVIN, 2015b; ESSENDUBI et al., 2016).

É possível também observar como substâncias podem – ou não – interagir com os lipídeos da barreira da pele, sendo uma metodologia mais acurada e com mais informações do que apenas o perfil de permeação de substâncias ativas. Para estudar os parâmetros fisiológicos dependentes da profundidade do estrato córneo, a microscopia Raman confocal pode ser usada como uma poderosa ferramenta não invasiva oferecendo a capacidade de medir a ordem conformacional do estrato córneo, ordem de empacotamento lateral e transições de estado lipídico (CHOE et al., 2017).

A utilização dessa metodologia para o estudo do comportamento de óleos essenciais na pele ainda é limitada e precisa ser mais explorada, sendo principalmente utilizada para a determinação de adulterações de óleos essenciais através de mudanças observadas nos perfis da espectroscopia (WILLIAMS et al., 2006; FARAG et al., 2018).

3. OBJETIVOS

O presente estudo caracteriza-se por ser multidisciplinar, com quatro objetivos principais relacionados ao conhecimento do mercado consumidor masculino e os seus hábitos de vida, a segurança e eficácia de óleos essenciais, caracterização da pele masculina oleosa e fotoenvelhecida, além do desenvolvimento de formulações cosméticas contendo óleos essenciais e fotoprotetores por meio de técnicas de biofísica e análise de imagem.

Como objetivos específicos podemos destacar:

- Desenvolver um questionário e avaliar o conhecimento do mercado consumidor masculino, bem como estudar a influência do marketing e da cultura de consumo no setor cosmético;
- Estudar a segurança de óleo essenciais separados, em combinação e veiculados em nanoemulsão;
- Desenvolver formulações cosméticas com óleos essenciais e fotoprotetoras e avaliar suas características de textura, reologia, sensorial e de estabilidade;
- Avaliar os impactos dos hábitos cosméticos no fotoenvelhecimento e pele oleosa com tendência a formação de comedões, bem como avaliar eficácia clínica de cosméticos com óleos essenciais.

4. MATERIAL

4.1. MATÉRIAS-PRIMAS

As matérias primas utilizadas neste estudo estão de acordo com o *International Nomenclature of Cosmetic Ingredients* (INCI), o nome comercial e o fornecedor/fabricante.

- Corn Starch, Amido de milho / Maizena, Brasil
- Tapioca Starch, Amido de tapioca / DaTerrinha, Brasil
- Glycerin, Glicerina / Mapric, Mapric, Brasil
- Dissodium EDTA, EDTA Dissódico / Mapric
- Water, Água
- Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Butylparaben (and) Propylparaben (and) Isobutylparaben, Phenova / Croda
- Butilenglycol, Butilenoglicol / Mapric
- Argan Oil, Óleo de Argan / Mapric
- Iota Carragen, Carragena Iota / Mapric
- Polyglyceryl-6-Diistearate, Poligliceril-6-Distearato / Gattefosé
- *Lavandula angustifolia* essential oil, óleo essencial de lavanda / Ferquímica
- *Eucalyptus globulus* essential oil, óleo essencial de eucalipto / Ferquímica
- *Citrus reticulata* essential oil, óleo essencial de tangerina / Ferquímica
- *Melaleuca alternifolia* essential oil, óleo essencial de melaleuca / Ferquímica
- *Melaleuca alternifolia* essential oil nano emulsão / PharmaSpecial
- Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine / BASF
- Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol (and) aqua (and) decyl glucoside (and) propylene glycol (and) xanthan gum / BASF
- PEG-75 Lanolin, Lanolina PEG-75 / Croda
- Octyl Metoxicinamate / Symrise
- Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer / Galena
- Hydroxyethylcellulose / Galena

4.2. REAGENTES

- 1,1-difenil-2-picrilhidrazil / Sigma-Aldrich
- 3-carboxy-2,2,5,5-tetramethyl-1-pyrrolidinyloxy / Sigma-Aldrich
- Etanol / UVASOL, Merck
- Dulbecco's modified Eagle's medium
- Dimethyl sulfoxide

4.3. EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- Agitador mecânico, Heidolph®, RZR 2021;
- Balança analítica Ohaus, modelo AS 200;
- Balança eletrônica Marte, modelo AS 2000;
- Centrífuga, Excelsa Baby II, modelo 206-R;
- Peagâmetro, Digimed®, modelo DM 20;
- Chapa de aquecimento;
- Termômetro;
- Vidrarias em geral
- Reômetro Brookfield modelo RVDV3T CPT Cone e Placa (Brookfield, EUA) equipado com o Spindle CPCPA-52Z e o software RHEOCALCT®.
- Texturômetro TAXT Plus (Extralab Brasil, Jarinu, Brasil)
- Corneometer® CM825 (Courage-Khazaka, Alemanha)

- Tewameter[®] SEM 575 (Courage-Khazaka, Alemanha)
- Sebumeter[®] SM 810 (Courage-Khazaka, Alemanha)
- Visioface Quick[®] (Courage-Khazaka, Alemanha)
- Vivascope 1500[®] (Courage-Khazaka, Alemanha)
- Dermascan[®] C (Cortex Technology, Dinamarca)
- Sebifix[®] F16 (Courage-Khazaka, Alemanha)
- Visioscan[®] VC 98 (Courage-Khazaka, Alemanha)
- Optical 3D Skin Measuring Device PRIMOS Compact 5.075, GFMesstechnik GmbH (Texas Instruments, EUA).
- Banho ultrassônico (Sonorex Super RK 102H, Bandelin Electronic, Germany)
- Analisador de composição de pele modelo 3510 (River Diagnostics, Rotterdam, Holanda)
- Placas de polimetilmetacrilato (6 µm PMMA Helioplates HD6, 25 cm², Labsphere, EUA)
- Filme adesivo (filme Tesa, Beiersdorf, Hamburgo, Alemanha, largura 1,9 cm)
- Espectrômetro UV/VIS Lambda 650 (PerkinElmer, Alemanha)
- Centrifuga (MR1812, Jouan GmbH, Alemanha)
- Cubeta de quartzo de 1 mm de comprimento (Hellma, Jena, Alemanha)
- Sonda de fibra de reflectância (Alemanha)
- Espectrofotômetro equipado com uma esfera integradora (analisador de transmitância de UV UV1000S, Labsphere, North Sutton, EUA)
- Dispositivo Dermainspect (JenLab GmbH, Alemanha) equipado com um laser de safira Ti: fentosseundo ajustável (Mai Tai XF, Spectra Physics, EUA)
- Simulador solar (Dr. Hönle tipo SOL-500; Planegg)
- Placa de 96 poços (Eppendorf, Alemanha)
- Malvern Zetasizer Nano ZS90 (Malvern instruments Ltd., Reino Unido)
- Visiopor[®] (Courage-Khazaka, Alemanha)

5. CAPÍTULO I: ESTUDO DO
COMPORTAMENTO, HÁBITOS E
EXPOSIÇÃO AOS PRODUTOS
COSMÉTICOS

5.1. MÉTODOS

5.1.1. Questionário inicial

O desenvolvimento do questionário baseou-se em trabalho publicado anteriormente ao doutoramento (INFANTE et al, 2016). A ferramenta foi dividida em três partes: utilização de cosméticos e hábitos de consumo e exposição às matérias primas; motivações de compra/uso e influências sociais na utilização de cosméticos. As perguntas eram de múltipla escolha e poderiam ou não contar com escala numérica de intensidade.

5.1.2. Pré-teste

Para a melhoria da ferramenta de pesquisa foi desenvolvido o pré-teste do questionário elaborado. Essa etapa consiste na aplicação da ferramenta para uma pequena parcela de respondentes. Nessa etapa todos os respondentes opinaram quanto às dúvidas e possíveis dificuldade que apresentaram durante a aplicação da ferramenta de pesquisa.

5.1.3. Validação por profissionais

Para a validação do instrumento foram enviados documentos formais para sete profissionais (um da área da psicologia, duas pós-graduandas na área de cosméticos, uma pós-graduanda na área de análise sensorial, um diretor de estudos clínicos de cosméticos, uma publicitária e uma livre docente da área de marketing). Nesse documento constava o questionário em si, junto de uma escala variando de 0 a 10 onde cada questão do questionário deveria ser avaliada de acordo com os seguintes fatores: Clareza, Simplicidade e Pertinência. Ainda, todas as questões foram alvo de críticas e sugestões. Todos os avaliadores tiveram o tempo de duas semanas para sua análise.

Para que as perguntas continuassem no instrumento sem alteração de seu conteúdo era necessário que obtivessem score médio igual ou superior a 8 nos quesitos clareza e simplicidade. Uma pergunta com score abaixo desse seria considerada pouco acessível à população e precisaria ser reformulada. Ainda, se no quesito pertinência o score fosse abaixo de 8, ela seria retirada do estudo.

5.1.4. Questionário final

O questionário final consta com três tópicos: utilização de cosméticos e hábitos de consumo e exposição às matérias primas; motivações de compra/uso e influências sociais na utilização de cosméticos, além dos dados socioeconômicos do participante. Para a participação nesta pesquisa o voluntário precisaria concordar, de forma on-line, com o TCLE de pesquisa envolvendo humanos (CEP CAAE/FCFRP 58368416.6.0000.5403, aprovação presente em

anexo 1). O questionário final está apresentado no anexo 2. Toda a sua aplicação foi obtida de forma on-line.

5.1.5. Amostra do estudo

De acordo com Reynolds et al. (2003) e Souiden & Diagne (2009), no contexto internacional, a amostragem não probabilística é aceitável no caso de pesquisa de aplicação de teoria. Os participantes foram informados sobre os objetivos do estudo e aceitaram participar após concordarem com um termo de consentimento online. Não oferecemos dinheiro aos participantes para reduzir o comercial e outros vieses que poderiam aparecer durante o estudo, como homens que não estão expostos a produtos cosméticos apenas respondem o questionário pelo dinheiro.

5.1.6. Análise do consumo e exposição à componentes de formulações cosméticas

Os autores avaliaram o percentual de voluntários que usam produtos cosméticos, bem como os produtos químicos presentes nesses produtos, e estudaram qual via de exposição é mais afetada, como nasal, cutânea, oral e ocular. Para cada produto foi calculado o escore médio de exposição e para cada participante foi calculado o valor total de exposição que poderia variar entre zero e sessenta e nove. Foram criados quatro grupos de acordo com a quantidade total de cada participante, conforme apresentado na Tabela 1. Foi calculada a exposição média de todos os participantes e o desvio padrão (DP) para obter a exposição média deste estudo. Cada produto foi apresentado como o baixo (0-1); níveis de exposição médios (1-2) ou altos (2-3) também. O valor final do escore poderia variar entre 0 a 69, já que contava com 23 produtos e a escala de intensidade iria de zero a três. Se o participante utilizasse todos os produtos com frequência diária receberia o valor final de 69.

Tabela 1: Classificação de acordo com a quantidade de cosméticos que o participante utiliza

Classificação	Soma de cada participante
Baixo	Entre 0 e 16
Médio	Entre 17 e 37
Alto	Entre 38 e 55
Muito alto	Entre 56 e 69

Os dados obtidos foram submetidos primeiramente ao teste de normalidade. Para isso, foi utilizado o teste de Shapiro-wilk. A correlação de Pearson foi aplicada para entender como o padrão de uso de cada produto está correlacionado com eles próprios. Todos os dados foram analisados com o software Prism GraphPad 8.3.

5.1.7. Motivações para o consumo de cosméticos

As questões dessa seção utilizaram uma escala de intensidade em que quanto menor o valor, menor a concordância com aquela afirmação. As perguntas "o que você procura em um cosmético?" e "o que influencia você a comprar cosméticos?" apresentaram escala de 0 a 7. A questão "Quanto você quer melhorar essas características com cosméticos?" apresentou escala de 0 a 3 e a pergunta "O quanto essas características influenciam você a comprar cosméticos?" apresentaram escala de 0 a 4. Os participantes foram convidados a dizer quanto gastariam em um produto cosmético para a pele. Os resultados foram comparados com a literatura atual a respeito do consumo cosmético masculino, bem como, particularidades da sociedade brasileira, uma das maiores do mercado cosmético para homens. Esses resultados foram utilizados como guia para o desenvolvimento dos cosméticos apresentados nesse estudo juntamente dos resultados obtidos na caracterização da pele masculina jovem.

5.1.8. Influências culturais para o uso de cosméticos

Um questionário com 17 afirmações foi aplicado a homens jovens brasileiros nos quais eles deveriam assinar uma resposta de 0 a 10, onde zero representa uma negação da afirmação e 10 uma verdade total da afirmação. A utilização da escala Likert foi importante para quantificar os dados qualitativos em quantitativos, facilitando a utilização das ferramentas estatísticas.

As 17 afirmações deste questionário foram: (1) Sou um homem vaidoso; (2) A boa aparência está relacionada ao uso de cosméticos; (3) A aparência é importante para mim; (4) O uso de cosméticos aumenta minha autoestima; (5) Homens de boa aparência obtêm melhores oportunidades de emprego; (6) O uso de cosméticos me ajuda nas conquistas amorosas; (7) Prefiro comprar produtos cosméticos depois de uma experiência sensorial; (8) Compro produtos cosméticos com frequência; (9) Eu faço uma pesquisa simples sobre produtos cosméticos antes de comprá-los; (10) Compro produtos cosméticos pela Internet; (11) Os cosméticos naturais são menos agressivos; (12) Prefiro apenas produtos cosméticos masculinos; (13) Eu uso produtos cosméticos da minha mãe, irmã ou outro parente; (14) Sinto-me inseguro na primeira vez que compro produtos cosméticos; (15) Prefiro que outra pessoa compre cosméticos para

mim; (16) Usar cosméticos não fere minha masculinidade; (17) O uso de produtos cosméticos está associado ao público homossexual.

Para a avaliação do questionário, as respostas foram separadas de acordo com o coeficiente de variação, sendo que as afirmações com coeficiente de variação superior a 50% não foram consideradas para as análises seguintes, a fim de reduzir o viés do estudo. Algumas questões foram comparadas entre si para observar possível diferença estatística. Os dados foram considerados normais pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e correlacionados pelo teste t de Student pareado (Wilcoxon pareado-pareado teste dos postos) para comparar duas questões diferentes, por exemplo. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Após o cálculo do coeficiente de variação, foi realizada uma matriz de correlação de Spearman entre os demais enunciados, com posterior cálculo do alfa de Cronbach (MATTHIENSEN, 2011), que pode ser expresso pela equação I. Questionários com valores maiores que 0,8 são considerados excelentes valores e com excelente confiabilidade de dados. Onde: k corresponde ao número de itens (questões) do questionário; S^2_i corresponde à variância de cada item; S^2_t corresponde à variância total do questionário (quantidade das variâncias dos avaliadores).

$$\alpha = \left[\frac{k}{k-1} \right] \cdot \left[1 - \frac{\sum_{i=1}^k S_i^2}{S_t^2} \right]$$

Equação I

A confiabilidade (intensidade da correlação entre os itens) ainda pode ser testada eliminando itens do questionário. Se ao eliminar um item o Coeficiente aumenta, pode-se supor que esse item não está altamente correlacionado com os outros itens da escala. Assim, o alfa de Cronbach determina se a escala é confiável, pois avalia como cada item reflete sua confiabilidade (MATTHIENSEN, 2011).

5.1.9. Estudo da influência da publicidade

Foi utilizada a base de dados do Euromonitor e do questionário desenvolvido nesse estudo para obtermos informações referentes aos principais setores de beleza masculino, bem como quais são as empresas que mais vendem cosméticos masculinos no país. Após isso foram analisadas as redes sociais, com enfoque no Instagram, das três principais empresas citadas pelos participantes entre 2018 e 2020, tendo em vista que são as que mais influenciam no

comportamento do consumidor masculino. Foram obtidos dados de engajamento, curtidas, comentários, bem como teor do conteúdo publicado pela empresa.

5.2. RESULTADOS

5.2.1. Pré-teste

Foram recolhidas respostas levando em consideração a faixa etária do estudo, selecionando sempre indivíduos que se identificavam com o gênero masculino, focando no público jovem. O objetivo dessa etapa foi de diminuir os vieses internos do instrumento de estudo, bem como melhorar a apresentação do mesmo frente aos entrevistados. Outro ponto importante para essa etapa foi a de observar o quanto as perguntas são pertinentes para o público masculino e pesquisar o que mais eles gostariam de saber acerca do assunto cosmético. Foram obtidas 22 respostas, sendo 8 sem nenhuma consideração adicional. A idade média foi de 27 ± 4 anos.

Os 14 questionários com algum tipo de observação, sugestão ou dúvida (64%) foram analisados de acordo com cada questão aplicada na pesquisa. As sugestões mais frequentes foram levadas em consideração e o questionário foi alterado a fim de obter-se uma ferramenta mais robusta e completa para a pesquisa.

As primeiras observações frequentes dizem respeito ao perfil do voluntário entrevistado. Dos 14 questionários com avaliações, 12 pediram que a renda fosse assinalada com valores e que o enunciado fosse modificado, modificando “poderia dizer qual sua renda mensal” para um termo mais específico como “qual a renda aproximada que sustenta você e/ou sua família?”.

Quanto à idade, os entrevistados preferiam que fosse uma pergunta aberta do que faixas etárias. Ainda, citaram a importância de adicionar uma pergunta quanto ao local de residência do entrevistado, bem como seu estado.

A segunda parte, mais relacionada com os hábitos de consumo, apresentou dúvidas principalmente na utilização de escalas. Por exemplo, na questão 1, onde perguntava-se a frequência semanal de uso dos produtos citados foi solicitado por 10 dos 14 entrevistados que a pergunta seja reformulada, bem como uma escala mais ampla aplicada, sendo colocada uma escala variando entre 0 e 3, onde zero indica não usa nunca e 3 diariamente.

Além disso, foi sugerido que fossem adicionadas as seguintes afirmações ao questionário na parte que diz respeito às influências sociais na utilização de cosméticos:

“Prefiro comprar produtos cosméticos após uma experiência sensorial, ou seja, após sentir toque, textura, aroma, entre outras características do produto.”

“Acredito que a publicidade de cosméticos masculinos é, em geral, machista.”

5.2.2. Validação por especialistas

Para que as perguntas continuassem no instrumento sem alteração de seu conteúdo era necessário que obtivessem score médio igual ou superior a 8 nos quesitos clareza e simplicidade. Uma pergunta com score abaixo desse seria considerada pouco acessível à população e precisaria ser reformulada. Ainda, se no quesito pertinência o score fosse abaixo de 8, ela seria retirada do estudo. Para a sessão “Perfil do entrevistado” todas as perguntas obtiveram score acima de 8 para todos os três quesitos analisados pelos especialistas.

Quanto aos comentários foi pedido que essa parte esteja no fim do estudo, a fim de não intimidar os entrevistados, tendo em vista perguntas de cunho pessoal como renda e escolaridade. Ainda, foi solicitado que na questão referente à escolaridade seja adicionado um item “pós-graduação”.

Na segunda seção, que aborda os hábitos de consumo cosmético, foi possível observar que todos os itens obtiveram score acima de 8, mostrando que esse item foi construído de forma clara e pertinente para o estudo.

Na terceira parte do questionário, que aborda a área comportamental do entrevistado, foram obtidos scores variados para cada questão, sendo que as perguntas “Eu não utilizaria um produto cosmético unissex, ou seja, que fosse veiculado tanto para homens como para mulheres” e “14) Acredito que a publicidade de cosméticos masculinos é, em geral, machista” obtiveram score abaixo de 8 no quesito pertinência, tendo sido excluídas do instrumento de estudo. A escala dessas questões também perdeu a alternativa “zero” com o intuito de diminuir o viés da pesquisa.

Ainda, nessa mesma seção, foi solicitada a retirada da outra pergunta que se utilizava da escala de Nagashima (NAGASHIMA, 1970) para a elaboração de um cosmético dito “ideal”. Para os avaliadores a questão seria muito complexa para a aplicação na população em geral, sendo que as alternativas poderiam ser abordadas de outras formas no questionário. Essa questão, apesar de obter score positivo para a pertinência, obteve scores muito baixos para simplicidade e clareza, dessa forma seu conteúdo será mantido em outras abordagens ao longo do questionário.

5.2.3. Caracterização da população e influências sociais, culturais e econômicas no uso de cosméticos

Foram coletadas 363 respostas on-line e foi difícil encontrar homens que estivessem interessados em participar na pesquisa de utilização de cosméticos. Os entrevistados foram classificados como: masculino, jovem (28 ± 6 anos), ensino superior com renda mensal entre 4000 e 8000 reais mensais. Além disso, as respostas brasileiras se concentraram principalmente nas regiões sul-sudeste do país. Foi calculado o índice de variação entre todas as respostas e para as questões 10, 11, 12, 13, 14 e 15 foram encontrados valores acima de 50% (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição das respostas coletadas na pesquisa com o público jovem masculino

	Média±DP	Coefficiente de variação
1	7.6±2.3	29.73%
2	5.9±2.5	43.19%
3	7.9±2.0	25.46%
4	6.8±3.0	43.45%
5	7.7±2.3	30.07%
6	6.5±3.0	44.83%
7	6.9±2.9	42.57%
8	6.7±2.9	43.56%
9	6.5±3.4	48.54%
10	3.5±3.9	111.6%
11	5.1±3.5	68.93%
12	4.0±3.5	86.02%
13	2.5±3.3	130.8%
14	4.2±3.4	81.73%
15	1.8±3.0	166.2%
16	9.6±1.3	21.1%
17	9.3±2.0	25.5%

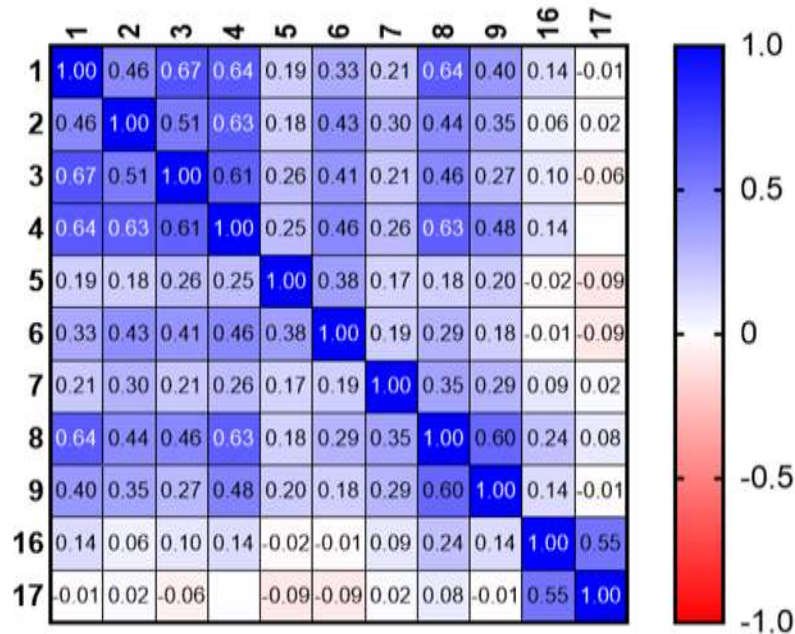
De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, é possível observar que a amostra é classificada como vaidosa, pois as afirmações 1 e 3 apresentaram escores elevados (7,6 e 7,9 respectivamente). Além disso, associaram homens bonitos a melhores cargos - afirmação 5 - e o padrão de uso de cosméticos aumenta a autoestima, conforme afirmação 4. É interessante destacar que afirmam comprar cosméticos com frequência e após uma percepção sensorial. Além disso, a amostra não correlacionou o uso de cosméticos com uma agressão à masculinidade ou como comportamento homossexual (afirmações 16 e 17).

Neste estudo, as questões 10 a 15, apresentaram grande variação de acordo com as respostas obtidas. Porém, essas afirmações são importantes porque trazem dados relevantes a respeito dos pontos que não estão de acordo entre a amostra. Aqui, as questões 10, 13 e 15 apresentaram o maior coeficiente de variação. A questão 10 está relacionada à aquisição online, 13 e 15 são questões relacionadas à aquisição de produtos cosméticos para o entrevistado por outra pessoa (mãe, família, companheiro). Em relação às questões com alto coeficiente de variação, a afirmação 11 (cosméticos naturais são menos agressivos) é a que apresenta menor variação.

O valor do alfa de Cronbach (Equação I) foi calculado em duas situações: com as 17 afirmações e após a melhora da escala, com retirada das afirmações com coeficiente de variação maior que 50%. Para o questionário com todas as afirmações um valor de 0,72 foi encontrado. Por outro lado, quando as questões 10,11, 12, 13, 14 e 15 foram excluídas, foi encontrado um valor de 0,83, mostrando que o instrumento mudou de bom e não reprodutível para excelente e reprodutível.

Há uma correlação positiva entre os homens que afirmam adquirir cosméticos com frequência (afirmação 8) com as afirmações 1 (sou um homem vaidoso), 4 (os cosméticos aumentam a autoestima) e 9 (pesquisa sobre cosméticos antes de comprá-los). Esse tipo de resposta nos traz uma correlação interessante entre a aquisição de cosméticos com autoestima, cuidado e vaidade. Para a afirmação 4, é possível observar uma correlação com as afirmações 2 (boa aparência correlacionada ao uso de cosméticos) e a afirmação 3 (a aparência é importante para mim). A afirmação 3 também está correlacionada com a afirmação 1. Além disso, a afirmação 8 apresenta certa correlação com a afirmação 9 (pesquisa antes da utilização de cosmético). As afirmações 16 e 17 também apresentaram certa correlação, porém não tão forte quanto as outras apresentadas anteriormente (Figura 2).

Figura 2: Correlação de Spearman entre as afirmações do estudo com coeficiente de variação menor que 50%. Os valores destacados em branco revelam as melhores tendências de correlação



5.2.4. Motivações, consumo e exposição a compostos químicos

A amostra busca cosméticos para melhorar a higiene e se embelezar. Os homens brasileiros não se preocupam com o tratamento ou prevenção como fator importante para o uso de produtos cosméticos (Tabela 3). No entanto, o fator mais importante que eles afirmam influenciar sua decisão de compra de cosméticos é em relação à indicação do médico. Preço, marcas, ensaios clínicos e indicação de amigos também são importantes. Esses participantes afirmam que publicidade ou influenciadores digitais não os influenciam. Afirmam que sensorial não é algo muito importante (Tabela 3). Os participantes desta parte do estudo queixam-se principalmente de acne e oleosidade e não se importam muito com os parâmetros de microrrelevo da pele ou calvície (Tabela 4). Na hora de comprar um cosmético, a prova de eficácia, o toque seco, a proteção solar, os ingredientes sensoriais e naturais de rápida absorção são os parâmetros mais importantes (Tabela 5). Em relação ao preço médio que poderiam pagar por um cosmético para a pele, o valor médio era de 62 ± 12 reais.

Tabela 3: Resultados da pesquisa de uso de cosméticos com base em questionário online referente às duas primeiras questões. É apresentada a frequência absoluta de cada pontuação e parâmetros, bem como a média.

O que você procura em um cosmético?									
	0	1	2	3	4	5	6	7	Média
Embelezar	16	14	37	29	25	53	60	166	5,155
Higiene	3	5	37	14	16	31	61	233	5,8425
Autoestima	21	35	30	36	32	44	51	151	4,785
Tratamento	30	30	37	37	37	37	53	139	4,5975
Prevenção	26	21	56	39	30	42	46	140	4,59
O que te influencia na compra de cosméticos?									
Marca	25	28	34	34	60	91	65	63	4,31
Ensaio clínico	38	24	33	35	40	78	65	87	4,36
Embalagem	67	48	47	62	52	70	35	19	3,0725
Indicação de amigos	29	21	33	41	58	72	75	71	4,3725
Indicação médica	20	14	41	23	25	52	69	156	5,0775
Digital influencer	120	41	34	32	44	64	36	29	2,8
Publicidade	85	63	50	65	50	51	20	16	2,6125
Preço	8	21	52	26	36	73	77	107	4,8075
Sensorial	70	32	38	26	34	54	57	89	3,8925

Tabela 4: Resultados da pesquisa de uso de cosméticos com base em questionário on-line referente à terceira questão. É apresentada a frequência absoluta de cada pontuação e parâmetros, bem como a média.

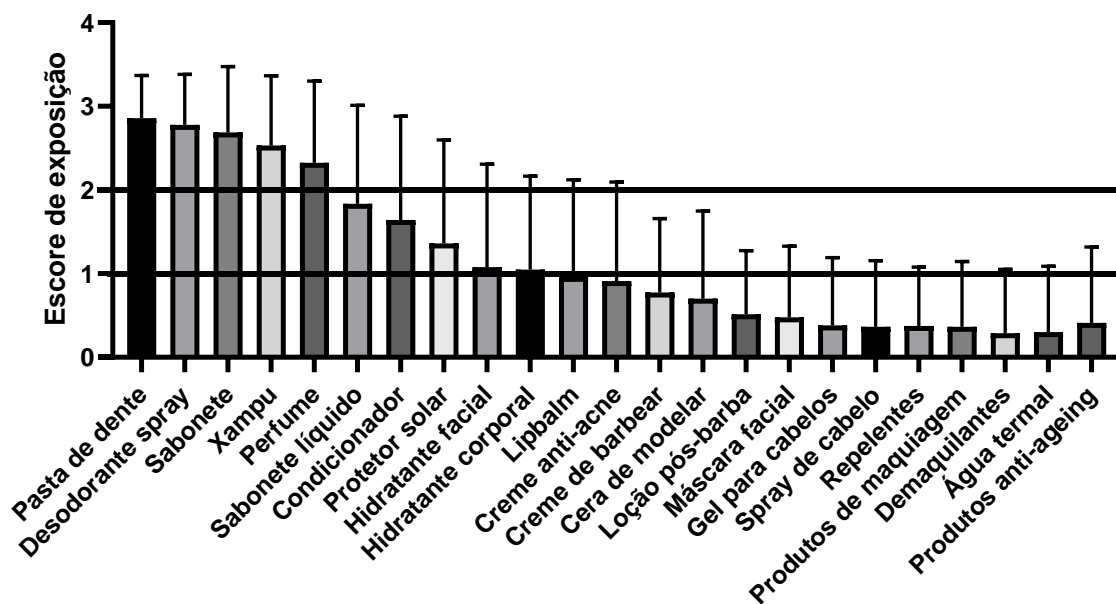
Quanto você quer melhorar essas características da sua pele com o uso de cosméticos?					
	0	1	2	3	Média
Rugosidade	85	217	90	8	1,0525
Padrão de pigmentação	62	125	147	66	1,5425
Rugas	85	220	52	43	1,1325
Flacidez	89	208	68	35	1,1225
Oleosidade	12	65	174	149	2,15
Acne	15	45	108	232	2,3925
Alopecia	92	224	42	42	1,085

Tabela 5: Resultados da pesquisa de uso de cosméticos com base em questionário on-line referente à quarta questão. É apresentada a frequência absoluta de cada pontuação e parâmetros, bem como a média

O quanto essas características do produto te influenciam para a compra?						
	0	1	2	3	4	Média
Cor	145	83	85	65	22	1,34
Proteção solar	5	25	120	105	145	2,9
Sensação de absorção	10	20	120	100	150	2,9
Toque seco	12	42	85	36	225	3,05
Composição	42	90	152	98	38	2,1
Aroma	100	89	98	95	18	1,605
Ingredientes naturais	40	45	100	122	93	2,4575
Testes de eficácia	8	38	42	80	232	3,225

Os produtos mais utilizados, classificados como de alta exposição, são creme dental, desodorante em spray e sabonete em barra. Xampu e perfume foram classificados em médio a alto, visto que os desvios-padrão foram maiores para esses produtos (Figura 3). A resposta média de cada participante correlacionou a exposição com, no mínimo, 14 produtos.

Figura 3: Frequência média \pm SD de exposição a produtos cosméticos. As faixas horizontais determinam os níveis de exposição (baixo, médio e alto) de acordo com a frequência de uso dos produtos cosméticos



O escore médio de exposição para cada participante deste estudo foi de $26,98 \pm 9,66$ pontos, o que significa $39 \pm 14\%$ em termos de frequência de exposição. É importante destacar que a pontuação varia entre 0 e 69 pontos. O valor extremo (baixo e alto) não foi prevalente neste estudo. Porém, é necessário estudar e compreender quais produtos são mais responsáveis pela exposição e entender as principais vias de exposição, bem como os compostos aos quais os homens brasileiros jovens estão mais expostos. Para cada produto, os resultados da pontuação total e dos níveis médios de exposição são apresentados na tabela 6.

É possível observar que, neste estudo, os homens estão mais expostos a produtos de higiene. O perfume foi um produto cosmético com alta incidência de uso. Produtos para a pele apresentaram um padrão de uso médio, mas variando de baixo a alto. É importante destacar esses resultados, pois apesar dos resultados de pontuação média ($26,98 \pm 9,66$), para alguns produtos, os homens apresentam elevada prevalência de exposição. Além disso, alguns produtos apresentaram alto desvio padrão.

Tabela 6 - Frequência de uso de cosmético (Média±DP) de acordo com a categoria, via de exposição segundo os participantes deste estudo

	Via de exposição	Soma	Média±dp	Nível de exposição
Pasta de dentes	Oral	1037	2.86±0.51	ALTA
Desodorante em spray	Nasal/Contato prolongado pele	1008	2.78±0.61	ALTA
Sabonete em barra	Contato limitado pele	976	2.69±0.79	ALTA
Xampu	Contato limitado pele	919	2.53±0.83	MÉDIA A ALTA
Perfume	Nasal/Contato prolongado pele	844	2.33±0.98	MÉDIA A ALTA
Sabonete líquido	Contato limitado pele	666	1.83±1.17	BAIXA A ALTA
Condicionador de cabelos	Contato limitado pele	596	1.64±1.24	BAIXA A ALTA
Fotoprotetor	Contato prolongado pele	494	1.36±1.24	BAIXA A ALTA
Hidratante facial	Contato prolongado pele	392	1.08±1.23	BAIXA A ALTA
Hidratante corporal	Contato prolongado pele	381	1.05±1.12	BAIXA A ALTA
Lipbalm	Oral/Contato prolongado pele	349	0.96±1.16	BAIXA A ALTA
Antiacne	Contato prolongado pele	331	0.91±1.18	BAIXA A ALTA
Creme de barbear	Contato limitado pele	281	0.77±0.88	BAIXA A MÉDIA
Pomada para cabelos	<i>Hair styling</i>	255	0.71±1.05	BAIXA A MÉDIA
Loção pós barba	Contato limitado pele	187	0.52±0.76	BAIXA A MÉDIA
Máscara facial	Contato prolongado pele	174	0.48±0.85	BAIXA A MÉDIA
Antiaging	Contato prolongado pele	149	0.41±0.91	BAIXA
Gel capilar	<i>Hair styling</i>	138	0.38±0.79	BAIXA
<i>Hair spray</i>	Nasal/ <i>Hair Styling</i>	133	0.37±0.79	BAIXA
Maquiagem	Contato prolongado pele	133	0.37±0.78	BAIXA
Repelentes	Contato prolongado pele	136	0.37±0.71	BAIXA
Água termal	Contato prolongado pele	110	0.30±0.78	BAIXA
Demaquilantes	Contato limitado pele	105	0.29±0.76	BAIXA

5.2.4. Influência da publicidade

Ainda com relação ao questionário, os participantes foram questionados quanto às empresas de cosméticos que eles mais consomem cosméticos. Eles deveriam apresentar três marcas que estão acostumados a consumir ou que possuem em sua residência. As mais respondidas foram: Natura, Dove e O Boticário, respectivamente, com mais de 50% das respostas. Em seguidas empresas do grupo L'Oréal foram citadas como La Roche e Vichy. Com esses dados, pudemos acompanhar a evolução da representação do homem em peças publicitárias utilizando as mídias sociais das marcas desde 2018 até 2020. A principal plataforma escolhida foi o Instagram, tendo em vista que é uma mídia social de imagem e gostaríamos de estudar como a imagem do homem é utilizada pelo setor cosmético.

Não foram encontradas representações masculinas em publicidades veiculando fotoprotetores. Observou-se que as redes sociais, em especial o Instagram, das marcas de cosméticos contam com pouquíssima representação masculina em suas campanhas, estando mais representados apenas durante a época do dia dos pais ou campanhas de perfumaria. As publicidades do mês de novembro de 2020 do Grupo Boticário com relação à sua nova linha de cuidados com a pele contam com a participação de alguns influenciadores digitais do sexo masculino, porém é uma representação discreta frente ao todo.

Ambas as marcas nacionais, Natura e O Boticário apresentam em suas publicações sobre maquiagem a presença de homens ou drag queens utilizando produtos de maquiagem e/ou ensinando tutoriais de maquiagem. O Boticário apresenta uma página de segmentação masculina, porém com baixo número de seguidores se comparado com a página principal. O linguajar entende o homem apenas de uma forma, excluindo uma possível variedade no “ser homem”.

5.3. DISCUSSÃO

O processo de pré-teste e validação por especialistas foi importante para a redução de vieses e melhorar a acurácia da ferramenta. Entretanto, mesmo com esse cuidado foi possível observar que alguns pontos do questionário mostraram certo estranhamento para o público masculino, provavelmente por conta da falta de contato dos homens com esse mercado. A parte de influências socioculturais mostrou grande discrepância em algumas respostas como a afirmação de que produtos de origem natural são melhores ou mais seguros.

Segundo Rubin & Brod (2019) de 2017 a 2018, o mercado de produtos naturais para a pele cresceu 23%, para 1,6 bilhão de dólares, respondendo por mais de 25% dos 5,6 bilhões de

dólares das vendas anuais de produtos para a pele em 2018. No entanto, as agências de regulação não definem bem o que significam esses termos “limpo e natural” quando falamos de cosméticos, deixando esses rótulos abertos à interpretação. Isso leva também a uma demonização de determinados ingredientes classicamente seguros, ao mesmo passo que extratos botânicos (KIKEN & COHEN, 2002) e mesmo óleos essenciais podem ser irritantes e sua toxicidade ainda não é bem conhecida, tendo sido explorado esse assunto no próximo capítulo desta tese. Essa influência da mídia poderia explicar essa confusão entre os consumidores que já não estão acostumados com os produtos e ainda precisam processar informações – muitas vezes superestimadas – sobre o próprio setor cosmético que são conflitantes.

O processo de compra envolve vários fatores e a desinformação é uma das causas para a aquisição de um produto de forma equivocada. Nesse aspecto, isso pode gerar um feedback negativo na experiência de consumo, afastando ainda mais o homem do consumo de cosméticos. Dessa forma, as empresas cosméticas precisam se atentar à utilização da imagem masculina em suas campanhas, bem como em uma educação de como, o que e o porquê de utilizar determinado produto. Mais do que sustentar claims de sustentabilidade, é preciso assustar menos o consumidor e o familiarizar com aspectos relativos aos cosméticos.

Segundo relatório da Euromonitor, o mercado cosmético segmentado para o público masculino no Brasil é o maior do mundo (EUROMONITOR, 2019). Sendo assim, a compreensão desse mercado é importante para entender como é possível melhorar a comunicação entre os consumidores e as empresas. Além disso, o aumento da utilização de cosméticos tende a expor os consumidores a compostos químicos e estudos toxicológicos precisam ser desenvolvidos junto ao aumento desse consumo pelo público masculino (PARK et al., 2018). A maioria dos estudos, mesmo dentro da toxicologia, é voltado para o público feminino, mas mudanças na sociedade e nas normas de gênero abrem a necessidade de novos estudos da relação masculina com os produtos cosméticos e conseqüentemente a exposição.

É importante destacar a construção social da masculinidade, evidenciando a reprodução desse comportamento entre gerações, mesmo em diferentes culturas. Segundo Oliveira (2004), a masculinidade é um espaço simbólico com um significado estrutural que molda atitudes, comportamentos e emoções a serem seguidos. Dessa forma, o homem reproduz o comportamento masculino para ser aceito na sociedade. Aqueles que seguem esses modelos não são apenas atestados como homens, mas também não são questionados por outras pessoas que compartilham esses símbolos. A utilização de produtos cosméticos é frequentemente

apresentada como algo feminino e mais relacionado às ações de proteção e/ou prevenção. Dessa forma, até mesmo a aplicação de protetor solar, importante para evitar doenças de pele, muitas vezes é evitada pelos homens, pois esse ato pode significar uma ruptura nos símbolos masculinos. Vale ressaltar que os cosméticos, diferentemente dos medicamentos, estão muito correlacionados com publicidade e, conseqüentemente, com consumo. Esse comportamento tem uma estrita relação com esses símbolos culturais que permeiam os consumidores e de como é feita essa representação.

É interessante ressaltar que, ao se falar de publicidade, as empresas não utilizam a figura masculina em suas peças publicitárias, mesmo de produtos essenciais como o protetor solar. As poucas peças publicitárias encontradas para cosméticos que abrangem o público masculino reproduzem, na maioria das vezes, um espaço normativo de masculinidade, o que pode segregar a pluralidade do “ser homem”. Esse afastamento da figura masculina praticando atos corriqueiros como aplicar protetor solar de forma simples, não estereotipada, reflete na não identificação e posterior não aplicação de protetor solar. Os produtos de proteção solar são, de fato, adquiridos, porém o hábito de utilização não é encorajado e ensinado de forma adequada.

O padrão de uso de fotoprotetor é uma informação relevante, pois está correlacionado não apenas com o processo de fotoenvelhecimento, mas com a incidência de câncer de pele (ULRICH et al., 2009). Bakos et al (2002) mostraram em seu estudo que a proporção de uso de protetor solar entre mulheres e homens é de 2:1 no Brasil, evidenciando que mesmo há quase vinte anos o padrão de uso de protetor solar pelos homens brasileiros era menor do que entre as mulheres. No entanto, estudo ainda mais recente mostra um panorama semelhante (INFANTE, CALIXTO, MAIA CAMPOS, 2016). Esta não é uma realidade exclusiva do Brasil, McKenzie et al. (2019) mostraram em seu estudo que os homens americanos apresentam uma barreira social para iniciar o uso do protetor solar, pois estão sempre preocupados com as normas de masculinidade, evidenciando uma barreira cultural entre os homens e a aplicação do protetor solar. Nesse estudo é possível perceber que essa barreira existe mesmo para o público mais jovem.

Com relação ao questionário, a afirmação 14, que fala sobre a insegurança para comprar produtos cosméticos, foi discrepante entre as respostas. Os homens não estão acostumados com esse setor e não se sentem seguros para adquirir novos produtos, mesmo que sejam segmentados para o público masculino. A afirmação 12, a respeito da segmentação, também foi discrepante, mostrando que a perspectiva cultural pode influenciar no acesso aos produtos cosméticos mesmo com a segmentação adequada, especialmente quando saímos dos produtos de higiene

pele e entramos na discussão que diz respeito aos cuidados com a pele. Em relação a este assunto, é importante destacar que produtos disponíveis para homens no mercado não são especificamente de acordo com a fisiologia da pele masculina. A pele masculina apresenta algumas diferenças morfológicas e estruturais principalmente por causa da estimulação da testosterona (GIACOMONI et al., 2009), porém, a maioria dos produtos para os homens são produtos de higiene como o xampu e o apelo é, em sua maioria, sensorial e comercial.

Um ponto importante deste estudo que evidencia a norma da masculinidade é a alta concordância quanto à afirmação 5 (Homens bonitos obtêm melhores oportunidades de trabalho). Esta afirmação recebeu pontuação elevada ($7,7 \pm 2,3$) com baixo coeficiente de variação e vai ao encontro da ideia social de que os homens são educados para serem agressivos e orientados para o trabalho (DE OLIVEIRA, 2004). O enunciado 6, relacionado à conquista de par amoroso, apresentou resultados inferiores se comparado ao enunciado 7 ($p < 0,001$), evidenciando a condição social de masculinidade: os homens podem usar cosméticos para ter uma melhor apresentação no posto de trabalho, mas não dão a mesma importância para a conquista do amor, algo mais relacionado à figura feminina.

A amostra classificou a aparência como algo importante e com melhores posições de trabalho conforme os resultados das afirmações 1, 3 e 5, maiores escores neste estudo. Porém, não optaram pela afirmação 2 - boa aparência está relacionada ao uso cosmético - muitas vezes. Dessa forma, é possível observar que não relacionam o uso de produtos cosméticos com boa aparência, visto que correlacionam o uso de cosméticos com produtos de higiene e porque não há uma pressão social tão grande sobre os homens quanto ao envelhecimento, por exemplo.

As afirmações 7, 8 e 9 estão relacionadas com o comportamento de compra. A amostra relatou que prefere comprar produtos cosméticos após uma percepção sensorial (afirmação 7) e pesquisar antes de adquirir produtos cosméticos (afirmação 9) e frequentemente compra produtos cosméticos. Os homens deste estudo procuram produtos cosméticos para comprar, porém, de acordo com a afirmação 14, eles não se sentem seguros para obter os produtos cosméticos em uma primeira compra. Esse público é acostumado com produtos de higiene, porém, para os cosméticos de cuidados com a pele e proteção solar a realidade não é a mesma. A norma da masculinidade pode ser o problema para iniciar o acesso e diminuir a insegurança masculina em relação aos produtos cosméticos para a pele. É importante lembrar que neste estudo entrevistamos homens com bom poder aquisitivo em sua maioria, outros estudos sobre as diferenças socioeconômicas precisam ser desenvolvidos para melhor compreender esse viés.

Na verdade, o que se pode observar são as normas de masculinidade que regem a relação do homem com os produtos cosméticos. As relações entre a autoestima e o padrão de uso do cosmético estão relacionadas à vaidade, à masculinidade e ao consumo desses produtos. Podemos observar que há um grupo de homens que está começando a explorar os cuidados com a pele, provavelmente homens mais jovens e ligados às tendências de internet.

Um dos objetivos do presente estudo é tentar compreender a preferência dos homens em relação aos cosméticos e como desenvolver formulações cosméticas que possam ser satisfatórias para esse público. Aqui queremos destacar que este trabalho não apresentou o objetivo de formular produtos cosméticos para homens comparando as características da pele feminina. Este estudo está focado na percepção sensorial, nas condições culturais e na importância do comportamento do consumidor de cosméticos frente ao produto em si, além das características fisiológicas observadas na seção de caracterização.

Giacomoni et al. (2009) já publicaram sobre as diferenças de acordo o sexo biológico, onde os homens poderiam ter um aumento da secreção sebácea frente à maior quantidade de hormônios androgênicos. Além disso, homens e mulheres aparentemente apresentam uma percepção sensorial diferente, provavelmente pela quantidade de sebo e suor. Em nosso estudo, encontramos homens que reclamam de pele oleosa, mas em outros estudos de nosso grupo de pesquisa, as mulheres brasileiras alegam sofrer também de pele oleosa (DE MELO & CAMPOS, 2018; LEITE & MAIA CAMPOS, 2020). Dessa forma, o desenvolvimento de cosméticos para brasileiros, em geral, precisa entender principalmente a questão regional tendo em vista a grande influência de fatores externos na pele.

Os homens procuram cosméticos para melhorar seus hábitos de higiene e para se embelezar. Esse público está começando a usar regularmente produtos para cuidados com a pele e até mesmo os protetores solares e o uso é mais regular entre as populações mais jovens. O presente estudo está focado no desenvolvimento de produtos cosméticos para homens com idade média entre 20 e 30 anos. A alta incidência de acne como uma perturbação da pele está correlacionada com a idade de nossa amostra. No caso, trabalhamos com acne não-inflamatória por questões éticas e para ser aplicado em produtos cosméticos, não medicamentosos.

A indicação de um médico é o principal contato inicial do homem com produtos cosméticos e o preço também é importante, porém, não correlacionaram preço baixo a melhor opção, o que ilustra porque o mercado brasileiro de higiene masculina está crescendo tão rápido (INFANTE, CALIXTO, MAIA CAMPOS, 2016). Outro ponto é que os homens entrevistados

na etapa clínica não mencionaram preço como uma barreira a ser superada para iniciar o uso de protetor solar.

Além disso, a acne, foi o problema de pele mais citado no questionário, podendo ser correlacionada com a indicação médica de produtos para a pele. Provavelmente, o consumidor masculino confunde medicamentos com cosméticos porque ambos são para aplicação tópica. Esse é um erro comum para consumidores que não usam produtos para a pele, por exemplo. O principal problema em relação aos homens e cosméticos, aparentemente, é o distanciamento desse público com os produtos para a pele. Dessa forma, o desenvolvimento de um cosmético levando em consideração não apenas as particularidades biológicas, mas também as influências socioculturais, é uma forma importante de melhorar a aceitação dos produtos cosméticos para a pele pelo público masculino. É preciso ressaltar também a importância do farmacêutico nesse aspecto em papéis para além do desenvolvimento, como a fármaco e cosmetovigilância e sendo responsável por uma ponte entre o marketing e o setor de pesquisa e desenvolvimento.

É interessante observar que os homens buscam cosméticos com toque seco, de rápida absorção, eficácia clínica comprovada e proteção solar. Os ingredientes naturais na formulação podem ser uma vantagem. Entretanto, o termo “cosméticos naturais” pode ser confundido como um cosmético mais compatível e com menor impacto ambiental para os consumidores principalmente para os homens que não são acostumados com este mercado (RUBIN & BROD, 2019). Em relação às demais características, os homens procuram produtos cosméticos multifuncionais e a proteção solar pode ser uma vantagem. No entanto, esse público não aplica protetor solar com frequência como as mulheres.

No presente estudo, resumimos os padrões de uso de diferentes produtos cosméticos entre homens jovens brasileiros e fornecemos dados extensos sobre o padrão de uso dos produtos entre essa população. Além disso, este estudo cobriu uma variedade de subtipos de produtos incluídos em diferentes padrões de uso e comportamento de exposição, bem como a via de exposição. Assim, os resultados aqui apresentados podem ser usados para avaliar o potencial risco à saúde, incluindo o efeito do uso na população masculina brasileira, um dos maiores consumidores de produtos cosméticos segmentados em todo o mundo, como apresentado anteriormente. Dessa forma, é importante estudar a população brasileira uma vez que os níveis de exposição direta (e provavelmente indireta) a compostos de produtos cosméticos estão aumentando.

Em comparação com estudos europeus, aqui apresentamos diferenças na prevalência de uso de vários tipos de produtos cosméticos. As prevalências de uso de perfumes e produtos para

os cabelos foram maiores entre os brasileiros se comparados à Holanda (BIESTERBOS et al., 2013). Quase todos os homens brasileiros deste estudo usam xampu e perfume com alta frequência. Comparando com os Sul-coreanos (PARK et al., 2018), o mesmo panorama é visível, porém os coreanos usam mais esse tipo de cosmético do que a Holanda. É interessante destacar que para os homens brasileiros o uso de protetor labial é baixo, mas para os coreanos é um dos cosméticos mais usados. Essas diferenças nos padrões de uso são importantes para exemplificar como o ambiente sociocultural pode influenciar nos níveis de exposição dos produtos cosméticos. Além disso, o estudo mostrou que os principais produtos cosméticos utilizados pelo homem são os produtos para higiene pessoal e fragrâncias. Isso é interessante porque mesmo com uma amostra não tão grande, os nossos resultados estão de acordo com o Euromonitor 2019 que apresenta o panorama do consumo de produtos cosméticos pelos homens brasileiros em uma escala bem maior.

As vias de exposição mais prevalentes são: nasal indireta e oral, seguidas de contato prolongado com a pele. É interessante destacar porque sempre associamos o uso de produtos cosméticos ao contato com a pele, mas outros padrões de exposição podem influenciar diretamente na forma como os produtos químicos serão ou não metabolizados. Em nosso estudo a utilização de produtos cosméticos como spray fixador, perfume e desodorante spray pode expor o consumidor diretamente na pele, mas no momento da aplicação pode expor-se pela via nasal. Esse tipo de exposição pode ser em um espaço de tempo muito curto, porém, como esses produtos são muito utilizados - quase diariamente - o efeito cumulativo pode ser significativo. Este estudo é importante para explicar sobre os padrões de exposição cosmética para novas pesquisas relacionando toxicologia e quais ingredientes químicos podem ser mais prevalentes entre os homens brasileiros.

Uma informação importante sobre nossos resultados diz respeito à utilização e exposição de produtos cosméticos de higiene. Apesar do contato com a pele ser limitado, a utilização de produtos de higiene com grande quantidade de surfactantes pode afetar a integridade do estrato córneo e levar à penetração de outros compostos presentes nos produtos cosméticos (ABRAHAM, 2017). Por exemplo, uma pessoa com boa barreira cutânea e com hábitos de higiene normais provavelmente absorve menos compostos cosméticos do que uma pessoa com barreira cutânea danificada e com uso excessivo de produtos de higiene. É importante ressaltar que nos últimos anos surgiram novos estudos na área de cosmética correlacionando o microbioma com a integridade da barreira cutânea (GRICE & SEGRE, 2011). Dessa forma, a utilização de produtos cosméticos de higiene pode afetar o microbiota, a

barreira da pele e a absorção de componentes de outras formulações cosméticas. Porém, é importante destacar a presença de fragrâncias, conservantes, aromatizantes e flúor para dentifrícios como compostos que apresentam alto nível de exposição entre esses consumidores, haja visto seu perfil de consumo. Os níveis de exposição a filtros UV e agentes hidratantes estão em níveis intermediários para homens jovens, porém com tendência de aumento devido aos hábitos de cuidado da pele que estão se tornando mais prevalentes entre os homens, especialmente motivados pelas mudanças observadas em redes sociais.

A utilização de filtro solar e hidratantes faciais apresenta um resultado interessante quando analisamos os níveis de exposição. Em primeiro lugar, porque esses produtos se correlacionam com um contato prolongado com a pele e como o padrão de penetração na pele de compostos como os filtros UV depende do tempo de exposição e do tipo de filtro e da formulação em si, as informações sobre o aumento da utilização de filtro solar entre os homens dão subsídio para novos estudos toxicológicos e de segurança. O segundo ponto importante se correlaciona com o aumento da exposição aos níveis de conservantes e outras substâncias cosméticas, uma vez que o cuidado com a pele está surgindo como um novo comportamento mesmo entre os homens.

Essa parte do estudo foi importante e nos deu subsídios para: elaboração das formulações cosméticas a partir das aspirações do mercado consumidor, a relação do homem com os cosméticos, sua representação na mídia e impactos do consumo, além dos parâmetros a serem avaliados na parte de caracterização da pele masculino. Iremos trabalhar com fotoenvelhecimento, tendo em vista a relação do homem brasileiro com uso de protetor solar e também a pele oleosa com tendência à formação de comedões.

6. CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DA
NANOEMULSÃO DE MELALEUCA

6.1. MÉTODOS

6.1.1. Seleção dos óleos essenciais

Foram selecionados quatro óleos essenciais para esse estudo: *Citrus reticulata*, *Melaleuca alternifolia*, *Eucalyptus globulus* e *Lavandula angustifolia*. Trabalhamos com eles em separado e nas seguintes combinações: 3OE (Lavanda+Tangerina+Eucalipto) e 4OE (3OE+Melaleuca). A escolha se deu através de revisão da literatura para a compreensão dos possíveis benefícios associados ao uso de óleos essenciais em produtos tópicos. Para comparação da forma farmacêutica, utilizamos uma nanoemulsão de melaleuca.

6.1.2. Determinação do fator de proteção de radicais livres (FPRL)

O princípio da tecnologia (FPRL) é a determinação da atividade de eliminação de radicais de uma substância/produto, que contém antioxidantes (MEINKE et al., 2011). Este teste é realizado por espectroscopia eletro paramagnética (EPR) usando um radical de teste, que é reduzido pelo sistema antioxidante. O número de radicais de teste reduzidos representa a atividade de eliminação de radicais que é normalizada para 1mg de entrada da substância/produto antioxidante. O FPRL é calculado pela relação entre a concentração do radical de teste [radicais.mL⁻¹], o fator de redução que representa a diferença entre a intensidade do radical de teste não tratado e a diminuição da intensidade do sinal após o tratamento com o antioxidante normalizado para o sinal do radical de teste não tratado. Além disso, a entrada do produto que representa a quantidade da substância / produto medida [mg.mL⁻¹] também é levado em consideração no cálculo. O FPRL é expresso por um número positivo N com a unidade de medida 10¹⁴ radicais/mg. Essa etapa foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa do CCP, Charité em Berlin.

6.1.3. Avaliação da fototoxicidade e da citotoxicidade dos óleos essenciais em modelo *in vitro*

A predição de fototoxicidade foi realizada utilizando a viabilidade celular na presença e ausência de radiação UVA (OECD, 2004). A suspensão de células de fibroblastos 3T3 BALB/c em DMEM suplementado foi semeada em placas de 96 poços (1 × 10⁴ células/poço) e incubada por 24h. As placas foram lavadas com PBS (2x), a seguir cada substância diluída em DMSO 1% em oito concentrações diferentes, variando de 6,74 a 100 µg/mL, foram adicionadas em duas placas e incubadas por 1 h. O norfloxacino foi utilizado como controle positivo. Uma placa foi submetida à dose total de UVA de 13 J/cm², utilizando a irradiância de 7 mW/cm² por 30 minutos, por um simulador solar (Dr. Hönle tipo SOL-500; Planegg), enquanto a outra placa

foi mantida no Sombrio. Após a irradiação, as placas foram lavadas e o meio de cultura recarregado para incubar por 24h. A viabilidade das células foi medida pela absorção do corante vital vermelho neutro nos lisossomas celulares. As células foram lavadas com PBS e incubadas com o meio de cultura contendo 50 µg/mL do corante vital vermelho neutro por 3 h. A placa foi lavada com PBS, e a solução de dessorção (água: etanol: ácido acético; 49%: 50%: 1%) foi adicionada, então a absorbância foi medida a 540 nm. O ensaio foi realizado em dois experimentos independentes. Os dados foram analisados com o software Phototox 2.0, que calculou o efeito médio da foto (MPE). De acordo com o guia de determinação de fototoxicidade (OECD, 2004) uma substância com: $MPE < 0,1$ não prediz fototóxica; $MPE > 0,10$ e $< 0,15$ prediz provavelmente fototóxico; e $MPE > 0,15$ prediz fototóxico. Essa etapa foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa TECNOPROT, da FCFRP USP.

6.1.4. Modelo de pele *ex vivo*

As medições de penetração foram realizadas em amostras de pele de orelha de porco *ex vivo*, entregues recentemente de um açougueiro local na Alemanha. Os experimentos foram realizados em pele suína, por se tratar de um modelo adequado para pele humana, mas que apresenta uma maior permeabilidade do que o estrato córneo humano (CHOE et al, 2018).

6.1.5. Determinação dos *fingerprints* de óleos essenciais para a caracterização da amostra utilizando microespectroscopia RAMAN

Foi utilizado um analisador de composição de pele modelo 3510. Um laser NIR (785 nm, 20 mW, tempo de exposição de 5 s) foi usado para analisar as amostras de óleo essencial na região da impressão digital (400–2.000 cm^{-1}). Para isso, o óleo foi aplicado puro direto na região de análise do RAMAN e 21 espectros foram obtidos para cada amostra, sendo utilizados 10 na construção do fingerprint da amostra. O espectro obtido foi comparado com a literatura dos componentes principais de cada óleo essencial para identificar a presença dos componentes terpênicos (VARGAS JENTZZSCH & CIOBOTĂ, 2014). A nanoemulsão também foi avaliada para controle de qualidade relativo à presença de óleo de melaleuca e comparação da área sob a curva com o óleo puro de melaleuca para uma noção de quantidade de óleo de melaleuca presente na nanoemulsão. De acordo com os informes técnicos (FERQUÍMICA, 2021) os óleos essenciais apresentavam a seguinte constituição: *Melaleuca alternifolia* 41% de terpinen-4-ol, 21% de γ -terpineno, 9% de α -terpineno e 1% de 1,8-cineol. *Citrus reticulata* 86% de d-limoneno, 7% de γ -terpineno. *Lavandula angustifolia* 34% de linalol, 38% de acetato de linaleto. *Eucalyptus globulus* 83% de 1,8-cineol, 9% de limoneno.

6.1.6. Avaliação da penetração no estrato córneo utilizando modelo de pele *ex vivo* e espectroscopia RAMAN acoplada à microscopia confocal

Foi utilizado um analisador de composição de pele modelo 3510. Um laser NIR (785 nm, 20 mW na superfície da pele, tempo de exposição de 5 s) foi usado para analisar as amostras de pele da orelha de porco na região da impressão digital (400–2.000 cm^{-1}). A microscopia confocal utilizada foi descrita e utilizada para a determinação da profundidade de penetração de substâncias de aplicação tópica na pele (CHOE et al., 2015; SOUZA et al., 2017).

Os espectros da impressão digital Raman foram registrados acima da superfície da pele até uma profundidade de 40 μm , de 2 em 2 μm . Nesse caso, após 20 μm , os espectros Raman foram obtidos dentro da epiderme, uma vez que a espessura média do estrato córneo do modelo de orelha de porco é de 20 μm (CHOE et al., 2016; CHOE et al., 2018). As áreas da pele sem sulcos e folículos foram escolhidas para excluir sua influência nas medidas de penetração. Seis amostras de orelhas de suínos, que foram tratadas com os óleos essenciais puros e com suas combinações, foram medidas neste estudo, além da nano emulsão. Foi aplicada uma quantidade de 2,0 mg/cm^2 e as medidas foram realizadas após 30 minutos da aplicação na pele (temperatura ambiente 21°C), as medidas de CRM foram realizadas em 10 pontos diferentes na amostra de pele excisada.

Para determinar a profundidade de penetração média das substâncias em cada ponto de medição, os espectros da pele tratada com substância e da pele não tratada foram comparados pelo método de ajuste de quadrados mínimos múltiplos não restrito usando o software Skin Tools 2.0 (River Diagnostics, Rotterdam, Holanda) (CHOE et al, 2015). Com este método, foi possível calcular os coeficientes dependentes da profundidade de cada composto individual da pele (como colesterol, ceramida, queratina, ureia, água etc.) ajustando os espectros Raman medidos por seus espectros de modelo conhecidos, minimizando o ajuste residual erro. Esses coeficientes dependentes da profundidade fornecem informações sobre a concentração semiquantitativa de cada composto individual. Para a pele tratada com a substância, um coeficiente adicional da substância também foi determinado pela aquisição de espectros da substância pura e serve como a concentração relativa da substância na pele. Essa etapa foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa do CCP, Charité em Berlin.

6.1.7. Avaliação das características da nanoemulsão de óleo essencial de *M. alternifolia*

O potencial zeta dos transportadores lipídicos foi medido por Malvern Zetasizer Nano ZS90. Antes das medições, as amostras de SLN e NLC foram diluídas com 1:20 em água

deionizada. Cada amostra foi analisada em triplicata (MARQUELE-OLIVEIRA et al., 2010). Para uma medição precisa do diâmetro hidrodinâmico médio, o índice de refração da nanoemulsão foi analisado por um refratômetro. O índice de refração e a viscosidade foram empregados durante a análise do tamanho médio das gotículas. As amostras de nanoemulsão foram então analisadas em um aparelho Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Inglaterra) para calcular o tamanho médio das gotículas e a polidispersão das microemulsões. As medições foram realizadas em um ângulo permanente de 173° a 25°C (DE CAMPOS AURÁJIO, THOMAZINI & LOPEZ, 2010). Essa etapa foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa NanoTop da FCFRP USP.

6.2. RESULTADOS

6.2.1. Caracterização dos óleos essenciais e nanoemulsão utilizando microespectroscopia RAMAN

O informe técnico do óleo essencial de melaleuca informou que os principais terpenos eram terpinen-4-ol, γ -terpineno, α -terpineno e 1,8 - cineol. Com relação ao espectro, a banda forte na faixa de 1420 a 1440 cm^{-1} é atribuída aos modos de curvatura de CH_3/CH_2 , muito presente nas moléculas de terpenos. Levando em consideração os dados já publicados sobre os terpenos desse óleo (Vargas Jentzsch & Ciobotã, 2014) as bandas centradas em 1678 e 730 cm^{-1} podem ser atribuídas ao terpinen-4-ol, representado pelo azul escuro na figura 4. Essas bandas são atribuídas aos modos de alongamento da ligação dupla $\text{C}=\text{C}$ e deformação do anel do terpinen-4-ol, respectivamente. O espectro Raman do óleo de melaleuca também mostra bandas intensas em 1612 e 756 cm^{-1} , o que pode ser atribuído ao alongamento $\text{C}=\text{C}$ do α -terpineno e à deformação do anel do γ -terpineno, respectivamente (Baranska et al., 2005) A presença de γ -terpineno parece ser confirmada pelo ombro a 1702 cm^{-1} , atribuído ao modo de alongamento $\text{C}=\text{C}$ deste composto. Além disso, duas bandas de intensidade média em 1378 e 1304 cm^{-1} , que também foram visualizadas no espectro Raman de terpinen-4-ol relatado por Baranska et al. (2005), podem estar relacionadas aos modos de curvatura CH_3 e CH de terpinen-4-ol. As bandas de menor intensidade em 1016 , 954 e 800 cm^{-1} podem ser atribuídas ao terpinen-4-ol (Baranska et al, 2005; Vargas Jentzsch & Ciobotã, 2014). A banda fraca em 1160 cm^{-1} pode ser atribuída ao γ -terpineno. Em 650 cm^{-1} é possível observar uma banda de baixa intensidade que é relativa à presença de 1,8-cineol, mas com baixa intensidade (Figura 4A).

Os principais componentes do óleo essencial de lavanda de acordo com o informe técnico são linalol e acetato de linalila. O espectro Raman do óleo essencial de lavanda (Figura 4B) mostra características também observadas no espectro Raman do linalol relatado por

Daferera et al. (2002) e Vargas Jenrsch & Ciobotã, 2014; portanto, as bandas fortes para os modos de alongamento C = C (em 1676 e 1644 cm^{-1}) e os modos de dobra CH₃/CH₂ (1420 a 1450 cm^{-1}), bem como as bandas mais fracas em 1384, 1342, 1298, 1098, 1020, 932, 832, 800 e 762 cm^{-1} podem ser atribuídos ao linalol. Parece que a maioria das bandas pertencentes ao acetato de linalila são sobrepostas pelas do linalol, ficando difícil a sua observação, entretanto uma banda fraca a 1744 cm^{-1} (modo de alongamento C = O) sugere a presença de ésteres no óleo essencial, sendo um indicativo desse terpeno. Ainda, observamos a possível presença de 1,8-cineol, uma vez que a banda 650 cm^{-1} apresenta uma intensidade considerável.

A composição do óleo essencial de eucalipto depende da espécie da qual é obtido, o informe técnico aponta especialmente a presença de 1,8-cineol e d-limoneno. O espectro Raman do óleo essencial de eucalipto registrado para este trabalho (Figura 5A) mostra uma banda forte em 650 cm^{-1} , entre outras bandas fracas. A banda em 650 cm^{-1} pode ser atribuída ao modo de deformação do anel de 1,8-cineol. As bandas fracas em 1270, 1163, 1078, 925 e 814 cm^{-1} também são atribuídos ao 1,8-cineol, porque bandas semelhantes são distinguíveis no espectro Raman do 1,8-cineol publicado anteriormente (Vargas Jenrsch & Ciobotã, 2014). As bandas fracas em 760, 1018 e o braço em 1435 cm^{-1} podem representar a presença de d-limoneno. A presença do 1,8-cineol é a mais marcantes desse óleo essencial, levando em consideração a intensidade do pico em 630 cm^{-1} .

O óleo essencial de tangerina apresenta basicamente d-limoneno e γ -terpineno. As bandas destacadas em 760, 1434, 1646 e 1678 cm^{-1} são os principais indicativos da grande presença de limoneno (Figura 5B). Há outros picos menores que também indicam a presença de d-limoneno como 1076, 1158 e 1290 cm^{-1} . A presença do γ -terpineno já foi apresentada no óleo de melaleuca e alguns picos são muito próximos do d-limoneno, entretanto, a presença do ombro em 1702 cm^{-1} , atribuído ao modo de alongamento C = C deste composto, pode ter relação com a presença desse composto, em menor quantidade do que o limoneno.

Figura 4: Espectro de Raman dos óleos essenciais melaleuca (A) e lavanda (B) e seus principais constituintes. Os círculos coloridos nos espectros representam os picos que são associados ao terpeno assinalado ou à região de presença de densidade de CH₂/CH₃.

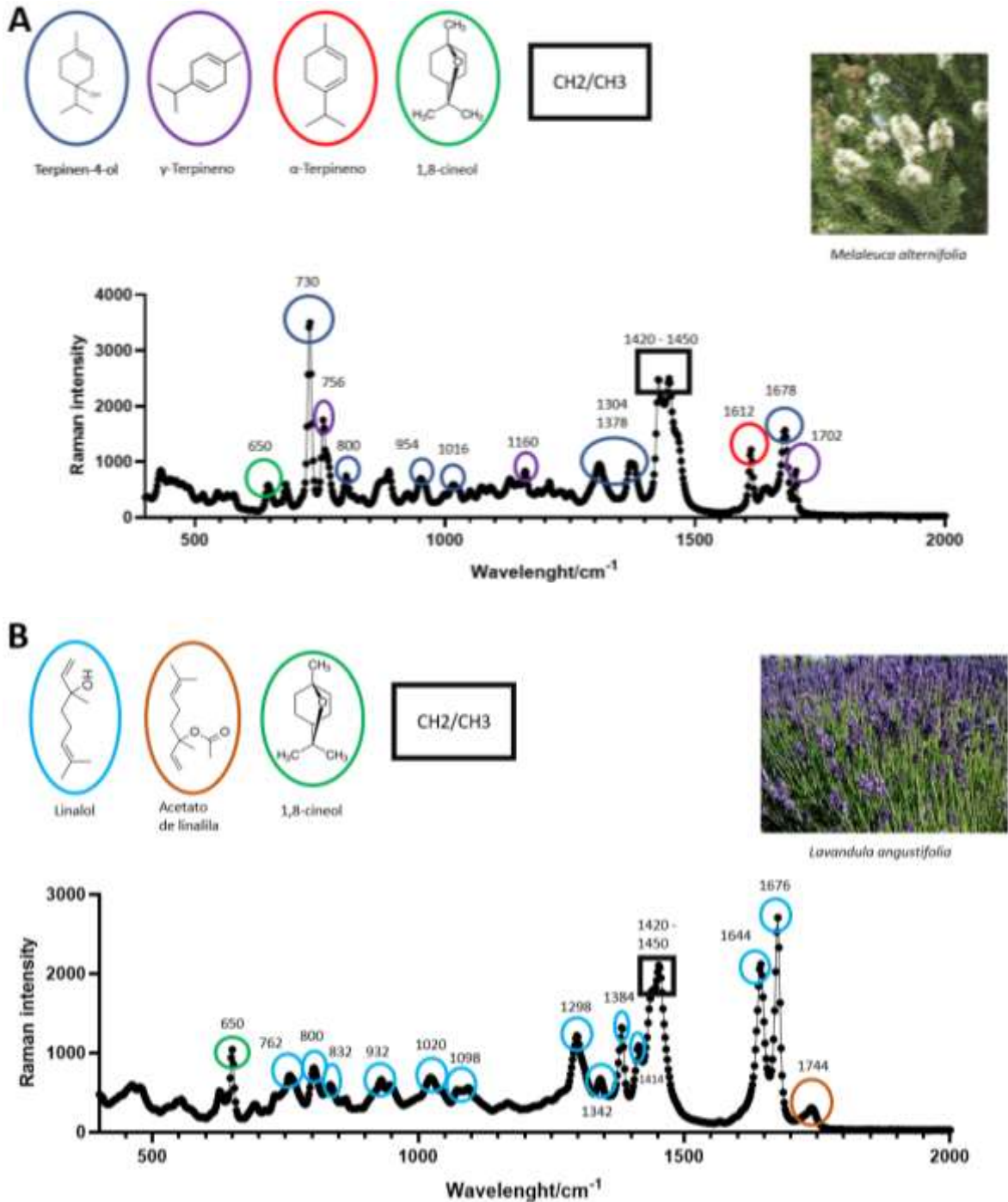
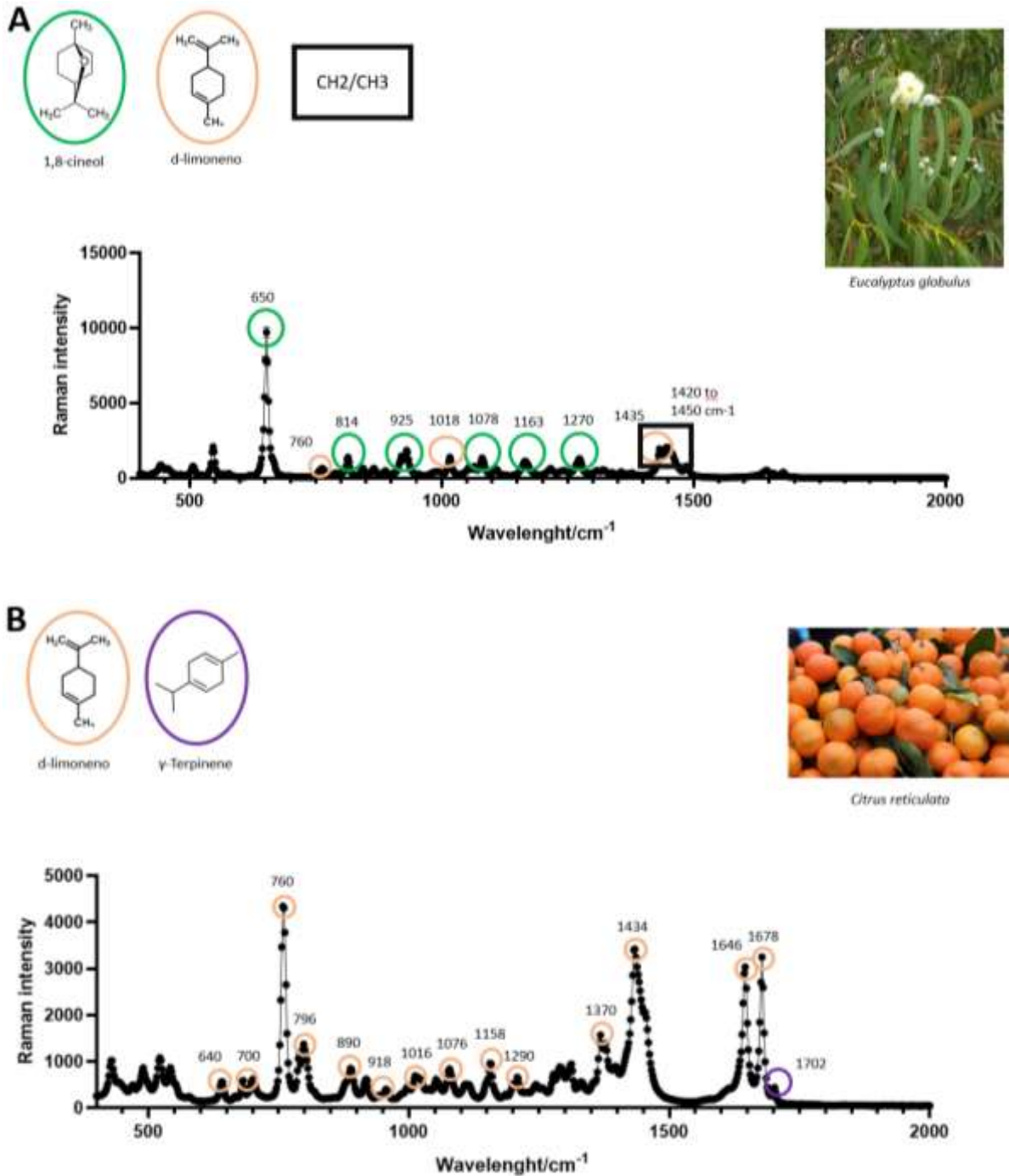


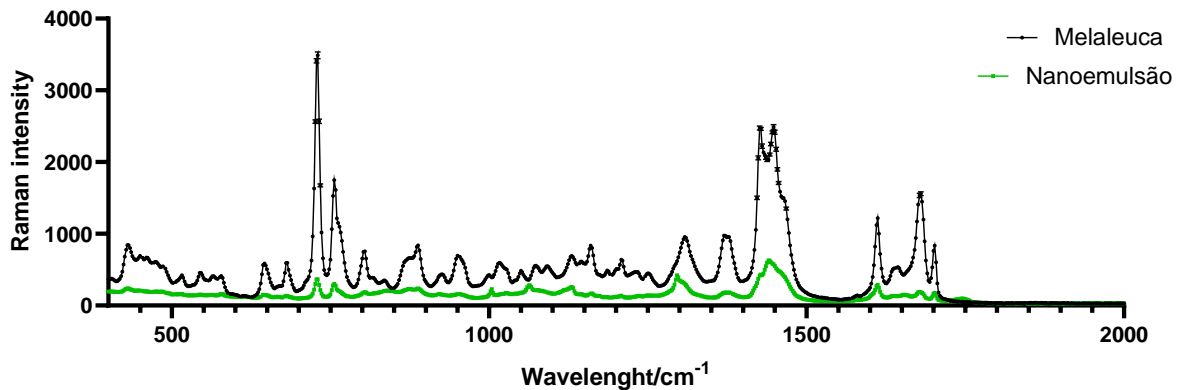
Figura 5: Espectro de Raman dos óleos essenciais eucalipto (A) e tangerina (B) e seus principais constituintes. Os círculos coloridos nos espectros representam os picos que são associados ao terpeno assinalado ou à região de presença de densidade de CH₂/CH₃.



Com relação à nanoemulsão, podeos observar que o espectro apresenta certa congruência, em menor intensidade, com o espectro do óleo puro de melaleuca. Obtivemos uma área abaixo da curva de 708687 ± 359 para a melaleuca pura e para a nanoemulsão a área foi de

245497±291, cerca de 3 vezes menor. Vale ressaltar que a nanoemulsão apresenta outras substâncias lipofílicas que podem ser notadas no Raman, aumentando a intensidade do pico. Os picos presentes para a nanoemulsão confirmam a presença dos componentes majoritários do óleo de melaleuca e a presença de 1,8-cineol é quase imperceptível (Figura 6).

Figura 6: Espectro de Raman do óleo essencial de melaleuca (curva em preto) e da nanoemulsão, curva em verde



6.2.2. Fototoxicidade e citotoxicidade em modelos *in vitro* de óleos essenciais

Os óleos essenciais utilizados neste estudo foram classificados como não fototóxicos, uma vez que todos os valores de MPE ficaram abaixo do limite de corte de 0,10 que não prediz potencial de fototoxicidade (OECD TG 432) (Tabela 7). Melaleuca, lavanda e eucalipto não apresentaram potencial de citotoxicidade (IC50-UV ND) nas concentrações estudadas; entretanto, o óleo essencial de tangerina apresentou tendência à citotoxicidade (IC50-UV 33,1). Esses resultados também foram observados para as misturas 3OE (IC50-UV 36,3) e 4OE (IC50-UV 40,2), que contêm tangerina na mistura. Trabalhamos com altas concentrações, 10% (m/m) no máximo e para o óleo essencial de tangerina uma provável citotoxicidade foi observada em concentrações acima de 3% (m/m) (Tabela 7). Dessa forma, o estudo para analisar o efeito das misturas na pele humana foi realizado com 2% (m/m) da concentração total do óleo essencial.

Tabela 7 - Ensaio de fototoxicidade em fibroblastos 3T3 de óleos essenciais, suas associações e formas farmacêuticas (n = 2)

	Corrida	PIF	MPE	EC₅₀ (-UV) µg/mL	EC₅₀ (+ UV) µg/mL	Probabilidade de toxicidade
Norfloxacino	1	4.154	0.542	ND	24.07	Fototóxico/ Não citotóxico
	2	4.760	0.545	ND	21.06	
<i>Melaleuca alternifolia</i>	1	1.000	-0.017	ND	ND	Não fototóxico/Não citotóxico
	2	1.000	-0.007	ND	ND	
3OE*	1	0.834	-0.004	32.64	39.15	Não fototóxico/Citotóxico
	2	0.999	0.003	39.36	35.69	
4OE**	1	0.808	0.057	42.88	53.07	Não fototóxico/Citotóxico
	2	1.131	0.069	37.47	33.16	
<i>Lavandula angustifolia</i>	1	1.000	0.018	ND	ND	Não fototóxico/Não citotóxico
	2	1.000	-0.004	ND	ND	
<i>Citrus reticulata</i>	1	0.929	-0.033	39.33	42.36	Não fototóxico/Citotóxico
	2	1.022	0.073	26.87	26.32	
<i>Eucalyptus globulus</i>	1	1.000	-0.005	ND	ND	Não fototóxico/Não citotóxico
	2	1.000	0.030	ND	ND	
Nanoemulsão	1	1.000	0.052	ND	ND	Não fototóxico/Não citotóxico
	2	1.000	0.073	ND	ND	

ND: Não determinado, EC₅₀: metade da concentração efetiva máxima; -UV: não irradiado; +UV: irradiado.*C1: eucalipto+tangerina+lavanda (concentração: 100 µg/ml de cada substância) **C2: eucalipto+tangerina+lavanda+melaleuca (concentração: 100 µg/ml de cada substância).

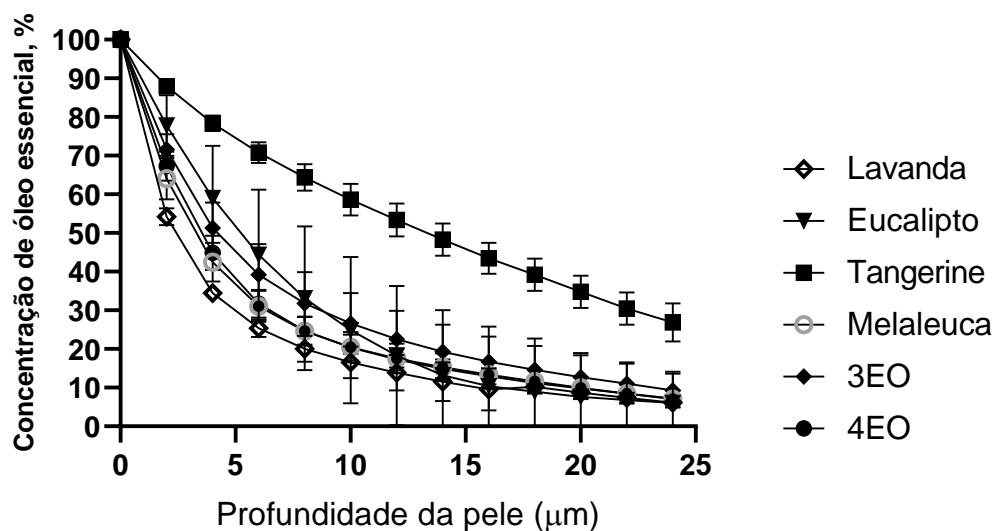
6.2.3. Penetração dos óleos essenciais em modelo de pele *ex vivo*

O perfil de penetração cutânea dos óleos essenciais puros apresentou padrões diferentes de acordo com as diferentes origens botânicas. O óleo essencial de *C. reticulata* apresentou maior penetração no estrato córneo. Após 20 μm de espessura do estrato córneo para a pele da orelha de porco, foi possível observar que mais de 30% da quantidade inicial de óleo essencial de tangerina penetrou na epiderme viável.

E. globulus apresentou resultados mais variáveis. Para *M. alternifolia* e *L. angustifolia*, foi possível observar perfis de penetração menores. A diferença mais evidente foi observada ao comparar *C. reticulata* com os demais perfis de óleos essenciais e a menor diferença foi observada entre *M. alternifolia* e *E. globulus*.

Para a combinação, foi possível observar uma sutil diferença entre o uso de três e quatro óleos essenciais. Ambas apresentaram um perfil de penetração menor se comparadas com *C. reticulata* pura, mas superior, quando comparadas com *M. alternifolia* ou *L. angustifolia* nas camadas superiores do estrato córneo. O uso de quatro óleos essenciais reduziu o perfil de penetração cumulativa através do estrato córneo quando comparado com os três óleos essenciais, entretanto todos os óleos essenciais chegam em concentração similar à epiderme superior, exceto o óleo de tangerina (20 μm). Cerca de 30% do óleo essencial de tangerina consegue penetrar o estrato córneo e chegar à epiderme viável (Figura 7).

Figura 7: Perfil de penetração da combinação ou não de óleos essenciais aplicados topicamente em pele intacta de suínos por 30 min medido por CRM (n = 6, valores médios \pm desvio padrão)



6.2.4. Caracterização do perfil de segurança e desempenho da nanoemulsão

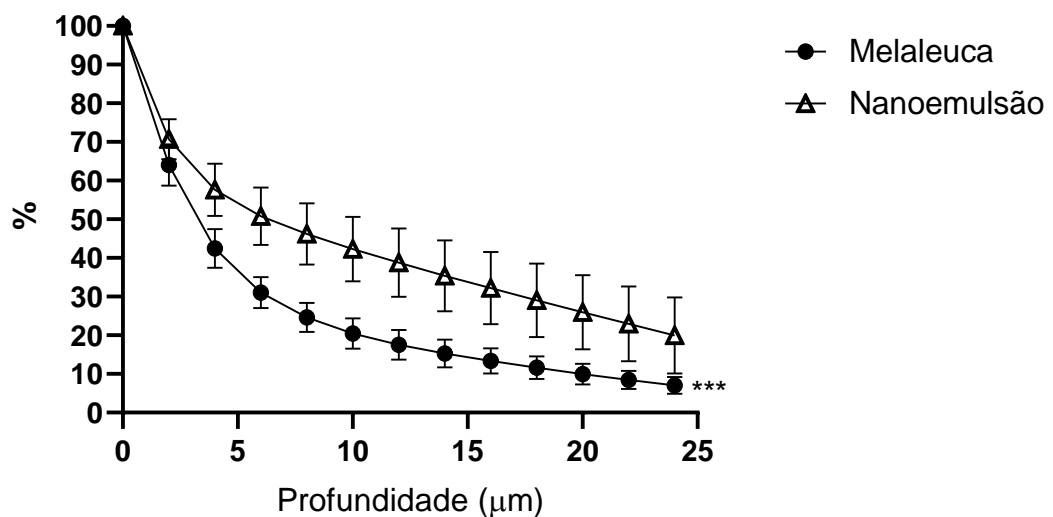
Os resultados referentes ao tamanho, PDI, potencial zeta e FPRL para a nanoemulsão estão apresentados na tabela 8. A melaleuca pura apresentou um fator de proteção de radicais livres muito alto ($455 \pm 4 \times 10^{14}$ radicals/mg) e a nanoemulsão cerca de 10 vezes menor.

Tabela 8 - Caracterização da nanoemulsão utilizada neste estudo de acordo com tamanho, PDI, potencial zeta e fator de proteção de radicais livres *in tubo*

	Tamanho (nm)	PDI	Potencial Zeta	FPRL [10^{14} radicals/mg]
Nanoemulsão	99.17 ± 5.26	0.27 ± 0.03	-6.85 ± 0.72	42 ± 2

O perfil de penetração do estrato córneo de nanoemulsão foi superior à melaleuca pura. Após 20 μ m, a nanoemulsão apresentou, no mínimo, 20% da penetração inicial, (Figura 8).

Figura 8: Perfil de penetração da nanoemulsão e óleo essencial de melaleuca aplicados topicamente em pele intacta de orelha de porco por 30 min medido por CRM (n = 6, valores médios \pm desvio padrão), onde (***) significa $p < 0,001$ comparando com o óleo de melaleuca puro



6.3. DISCUSSÃO

Considerando que os óleos essenciais são misturas complexas de diferentes substâncias, principalmente terpenos, e podem ser citotóxicos e/ou fototóxicos e, portanto, sua segurança precisa ser estudada e mais bem compreendida (KEJLOVÁ et al., 2007; BAKKALI et al., 2008).

A utilização da microespectroscopia Raman para a caracterização dos óleos essenciais utilizados nessa pesquisa, bem como da nanoemulsão, foi essencial para que possamos validar o que foi emitido no laudo de informa técnico fornecido pela empresa (VARGAS JENTZZSCH & CIOBOTÃ, 2014). Observamos boa concordância entre o material técnico e o observado com a espectroscopia Raman, exceto para a lavanda a qual foi detectada possível quantidade de 1,8-cineol que não estava discriminado no informe técnico.

O óleo essencial de melaleuca apresentou baixa quantidade de 1,8-cineol, algo bom porque óleo dessa planta com alta concentração de 1,8-cineol pode indicar um processo de envelhecimento e conseqüente perda de propriedades terapêuticas atribuídas ao óleo de melaleuca. Com relação à nanoemulsão, observamos boa congruência, em menor intensidade, com o espectro do óleo essencial de melaleuca puro, indicando a presença do óleo na composição.

O 3T3 NRU PT (OECD TG432) é um ensaio extremamente sensível para potencial foto tóxico geral e um resultado negativo de 3T3 NRU-PT em concentrações suficientemente altas é, portanto, considerado um indicador suficiente para foto segurança aguda. (CERIDONO et al., 2012; BENEVENUTO et al., 2015). Porém, como o óleo essencial de tangerina e as combinações 3OE e 4OE, que continham óleo essencial de tangerina, apresentavam tendência de citotoxicidade nas concentrações estudadas, pelo lado seguro, optamos por utilizá-los na concentração de 2% (m/m) nos estudos clínicos, sendo o de tangerina utilizado em concentrações menores do que 1%.

A citotoxicidade e fototoxicidade nas monocamadas e sua probabilidade de causar irritação ou fotoirritação na pele depende de sua penetração através do EC. Desta forma, os resultados referentes ao óleo essencial de tangerina em misturas com os estudos de penetração são importantes para serem discutidos quanto à segurança desses componentes. Este óleo essencial apresenta em sua composição principalmente d-limoneno, um terpenóide com baixa toxicidade (Sun, 2007). Cerca de 35% do óleo essencial de tangerina penetrou até a epiderme viável neste estudo. A pele da orelha de porco é considerada um modelo de pele adequado para estudar a penetração de substâncias através do estrato córneo. No entanto, pode ser mais permeável se comparado ao humano (CHOE et al., 2018). Por outro lado, uma grande quantidade de óleo essencial de *C. reticulata* foi observada nas camadas mais profundas da pele. Dessa forma, os resultados podem ser transponíveis até mesmo para a pele humana. O problema aqui está relacionado à citotoxicidade dependente da concentração observada nos testes 3T3 para *C. reticulata* e óleos essenciais em combinação. Por esse motivo, a avaliação

de segurança nos mostra que a utilização em menores concentrações em uma formulação cosmética é mais segura do que a aplicação direta do óleo essencial na pele.

A avaliação através de espectromicroscopia Raman não se vale de um marcador específico, mas de toda a extensão de composição do óleo essencial. É gerado um *fingerprint* da substância pura e da pele sem tratamento, além da combinação de ambos – pele com óleo essencial aplicado. Depois, os *fingerprints* são combinados utilizando softwares específicos e é possível observar como o *fingerprint* do óleo essencial penetrou – ou não – através das camadas (CHOE et al., 2018). Dessa forma, nós observamos a penetração do *pool* de moléculas presentes no óleo essencial e não o seu composto terpênico principal, sendo uma vantagem ao uso de HPLC, por exemplo.

A nanoemulsão apresentou um tamanho de aproximadamente 100nm e a utilização desta forma farmacêutica é interessante para melhorar a penetração na pele como já foi demonstrado na literatura (SU et al., 2017; SONNEVILLE-AUBRUN et al., 2018). No entanto, a penetração também pode ser afetada pelo tamanho. Neste estudo podemos observar que 26% da nanoemulsão é capaz de penetrar no estrato córneo e atingir a epiderme viável, enquanto a melaleuca pura fica em torno de 9%. A pele da orelha do porco é considerada um modelo de pele adequado para estudar a penetração de substâncias no estrato córneo. No entanto, pode ser mais permeável se comparado ao estrato córneo humano e a espessura é de 20 μ m (CHOE et al., 2018).

L. angustifolia foi o óleo essencial com menor taxa de penetração, sendo (7,3 \pm 2,4)% capaz de chegar até a epiderme viável quando aplicado em sua forma pura. Este resultado é interessante porque o principal terpenóide deste óleo é o linalol, conhecido como um bom potencializador de penetração. Porém, é importante ressaltar que os óleos essenciais são misturas complexas, e isso pode ser fundamental para o entendimento da ação na barreira cutânea. Com (9,3 \pm 3,0)%, os resultados são semelhantes para *M. alternifolia* - e ambos os óleos apresentaram uma boa avaliação nos estudos *in vitro*.

E. globulus apresenta uma partição volátil elevada devido à sua composição terpenóide, especialmente ao 1,8-cineol, e por isso os resultados para seu perfil de penetração parecem ser muito variáveis se comparados com os outros óleos essenciais. Este óleo essencial apresentou perfil de penetração semelhante ao de *M. alternifolia* por serem da família Myrtaceae, porém superior ao de lavanda (CARSON & RILEY, 2001). Ao mesmo tempo, se compararmos todos os óleos puros, tangerina e eucalipto foram os que apresentaram maior penetração através do estrato córneo. Provavelmente por conta da presença de d-limoneno, o principal constituinte da tangerina e em menor quantidade para o eucalipto, esses óleos apresentaram uma taxa de

penetração superior aos demais. Herman & Herman (2015) apresentaram em sua revisão sobre terpenos que auxiliam no processo de penetração cutânea que o limoneno já foi estudado como melhorador de penetração de substâncias farmacológicas através da pele. Nesse trabalho observamos que, de fato, ele é responsável por uma grande penetração através do estrato córneo, mas em combinação com outros terpenos acaba por apresentar menor ação penetrante através do estrato córneo.

É interessante discutir os resultados em relação às combinações de óleos essenciais. Mesmo com menor concentração de *C. reticulata*, a combinação apresentou resultados semelhantes quando comparada com o óleo essencial puro para o estudo *in vitro*, mas para o estudo de penetração o perfil foi mais próximo de *M. alternifolia* e/ou *L. angustifolia*, melhorando a segurança da aplicação do óleo essencial em produtos cosméticos, pois a utilização nesses produtos será diluída a partir da quantidade inicial. Os resultados da metodologia *in vitro* seguem os resultados obtidos para os mais citotóxicos/fototóxicos e os resultados de penetração se correlacionam mais com a menor penetração no estrato córneo. Dessa forma, combinamos três óleos essenciais em um grupo e quatro em outro para os testes clínicos, observando que se um óleo essencial menos penetrante for combinado, a taxa de penetração através do estrato córneo é menor, sendo depositada principalmente na parte região superior. Porém, para os estudos *in vitro*, a citotoxicidade é seguida para o óleo essencial com os piores resultados, evidenciando a importância de diferentes metodologias para uma melhor compreensão e correta avaliação da segurança.

O óleo essencial de melaleuca teve seu FPRL avaliado e foi considerado muito alto, dessa forma, como os participantes do estudo apresentam danos cutâneos relacionados ao estresse oxidativo, sua utilização foi importante na etapa de investigação dos efeitos clínicos.

As nanoemulsões costumam ser sistemas de liberação com interessante perfil de penetração através do estrato córneo, justamente porque sua natureza é mais compatível com o perfil lipídico do estrato córneo.

Essa etapa nos deu subsídios para: conhecer a segurança dos ativos utilizados neste estudo, caracterizar e explorar os potenciais desses ativos, além da definição dos grupos a serem estudados na etapa de eficácia clínica. Para isso selecionamos o óleo de melaleuca e a nanoemulsão para comparar a influência da forma farmacêutica, além de estudar a ação das combinações de óleos essenciais, tendo em vista melhor perfil de segurança e para entender se há correlação entre os resultados de eficácia clínica e a presente etapa aqui apresentada.

7. CAPÍTULO III: DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

7.1. MÉTODOS

7.1.1. Desenvolvimento das formulações

No desenvolvimento de formulação semissólida buscamos utilizar a menor quantidade de produtos que não fossem de origem natural, baseado em dados obtidos no estudo do capítulo 1. Além disso, a utilização de polímeros sintéticos foi descartada e uma base cosmética utilizando amidos foi proposta. O desenvolvimento contou com 72 formulações, sendo divididos em cinco diferentes estudos. O primeiro foi o estudo inicial, o de pré-formulação, da utilização de amidos para o desenvolvimento de base cosmética, contou com nove formulações.

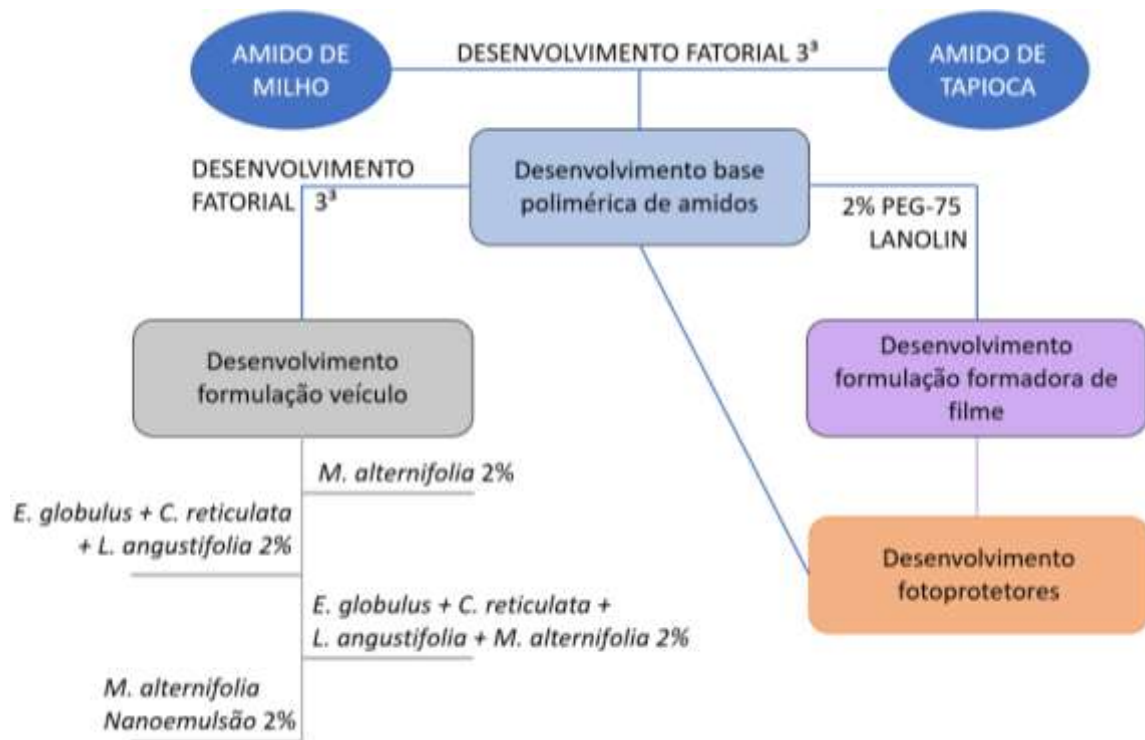
O segundo foi um design fatorial de experimentos para o desenvolvimento da base cosmética e contou com 27 formulações. Dessas, a melhor foi obtida e comparada com duas formulações tipo gel com relação ao sensorial e textura. Utilizamos 3% de hidroxietilcelulose (HEC) e na outra 3% de AAVC-P. Todas as formulações apresentavam a mesma quantidade de glicerina, butilenoglicol e conservantes.

O terceiro foi o desenvolvimento das formulações utilizadas no estudo clínico, contando com um ensaio fatorial, sendo desenvolvidas 31 formulações (27 do ensaio fatorial e mais 4 adicionadas de óleos essenciais de acordo com os grupos definidos para o estudo de eficácia).

O quarto estudo foi a melhora da formulação baseada em amidos para a formação de filme e utilização em estudos antipoluição e de fotoprotetores, sendo desenvolvida uma formulação.

O quinto estudo foi o desenvolvimento de fotoprotetores e contou com 2 formulações desenvolvidas. O esquema geral está apresentado na Figura 9. O uso do amido de tapioca foi cadastrado na atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei no 13.123/2015 e seus regulamentos. Número de cadastro A93D2A1 (Anexo III).

Figura 9: Esquema do desenvolvimento de formulações durante o projeto de doutorado. Cada cor representa uma diferente etapa no processo de desenvolvimento de formulações



7.1.2. Estabilidade acelerada

Após 24 horas do preparo, as formulações foram submetidas a estudos de estabilidade acelerada (ANVISA, 2004; GARBOSSA, MAIA CAMPOS 2016), que envolve vários passos como a determinação do pH, centrifugação e caracterização organoléptica a temperatura ambiente, 37°C e 45°C durante 90 dias.

Para o teste de centrifugação, cerca de 3 g de cada amostra foi centrifugada por 30 minutos a 3000 rpm, 3 vezes. Parâmetros como cor, separação de fases e homogeneidade foram considerados nas características organolépticas.

7.1.3. Comportamento reológico

As formulações consideradas estáveis nos testes preliminares de estabilidade foram submetidas ao estudo do comportamento reológico, em reômetro por meio de avaliação dos seguintes parâmetros reológicos: viscosidade, índice de consistência, índice de fluxo e tixotropia. As amostras foram mantidas na temperatura de 25°C em câmara climática modelo TE-4001-TE, marca Tecnal e submetidas a estresse térmico, nas temperaturas de 37°C e 45°C, em estufas termostatizadas com controle de umidade e fotoperíodo, modelo 111FC (Eletrolab). Foram coletadas para o estudo reológico, alíquotas de 0,5g das amostras em intervalos de tempo

de zero, 7, 14, 21, 28 e 60 e 90 dias (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003). Todas as formulações do estudo utilizaram a mesma corrida reológica. As corridas reológicas foram realizadas em triplicata, pesando 0,5g de formulação e aplicando estresse mecânico de rotação por 5s, variando de 0 a 20 rpm em sete diferentes pontos. Foi também obtida a curva de volta a fim de obtermos informações sobre a área de histerese das formulações. Utilizou-se reômetro modelo DV-III RV Brookfield com uma configuração cone-placa, conectado ao software RHEOCALC Versão V 1.2.19.

7.1.4. Ensaio de textura e trabalho de espalhabilidade de formulações cosméticas

A análise de textura foi realizada usando um TA.XT plus Texture Analyzer (Stable Microsystems, Reino Unido) equipado com duas sondas: TTC *Spreadability ring* HDP/SR e *Back Extrusion ring* A/BE 35 mm à temperatura ambiente. O método consiste na inserção da sonda analítica na amostra, com velocidade e profundidade definidas, levando a um período de recuperação pré-definido entre o final da primeira compressão e o início da segunda, resultando em uma força (g) gráfico em função do tempo (t). As análises foram realizadas de acordo com o objetivo da etapa de estudo.

O primeiro teste avaliou o trabalho de cisalhamento das formulações. Esta medida é obtida a partir da área sob a curva positiva. As condições da sonda foram distância de retorno 100 mm, velocidade de retorno 20 mm s^{-1} e força de contato 30 g 15. O segundo teste avaliou os parâmetros: índice de viscosidade, consistência, firmeza e coesão. Para isso, as formulações foram carregadas em recipientes de 125 mL, que possuem 50 mm de diâmetro. Neste teste, a firmeza é obtida a partir do valor máximo da curva positiva, consistência da área sob a curva positiva, coesividade do valor máximo da curva negativa e índice de viscosidade da área sob a curva negativa. A distância de retorno utilizada foi de 25 mm, a velocidade de retorno de 20 mm.s^{-1} e a força de contato de 30 g. Os dados obtidos na curva negativa foram analisados em valores absolutos (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017).

7.1.5. Desenvolvimento inicial de base cosmética utilizando amidos

Trabalhamos com duas fontes diferentes de amido em três diferentes concentrações e em associação. No total foram obtidas nove formulações, como mostrado na Tabela 9. Essa etapa inicial visava a compreensão de quais seriam os parâmetros mais adequados para a pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos com esse tipo de ingrediente.

Tabela 9: Formulações desenvolvidas para o estudo preliminar de estabilidade e viabilidade de utilização dos amidos

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Amido Tapioca	5%	7%	10%	-	-	-	2,5%	3,5%	5%
Amido Milho	-	-	-	5%	7%	10%	2,5%	3,5%	5%
Glicerina Vegetal	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%
Butilenoglicol	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%
Parabenos	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%
Água qsp	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Todas as formulações seguiram as seguintes etapas de preparação: pesagem dos amidos, glicerina vegetal e água em béqueres. Agitados por 1 minuto a 800 rpm em agitador de hélice e depois aquecidos até alcançar a faixa de 70 a 75° C. Após, foram agitados com hélice a 800 rpm por 15 minutos e adicionou-se o preservante disperso em butilenoglicol. Todas as formulações passaram por estudo de estabilidade acelerada com medidas de pH e corridas reológicas.

7.1.6. Design fatorial 3³ para a base cosmética com amidos

O design de experimentos é uma estratégia estatística que permite aperfeiçoar processos experimentais e racionalizar a tomada de decisão. Permite o estudo simultâneo dos efeitos de diferentes variáveis em uma resposta (FERREIRA et al., 2020). Um delineamento experimental fatorial completo com três níveis foi elaborado para cada polissacarídeo em estudo.

Para avaliar a influência da presença e concentração dos ingredientes nas formulações, foram definidos dois fatores numéricos contínuos: "concentração de polissacarídeo" e "concentração de glicerina". As combinações de polissacarídeos escolhidas para compor os três delineamentos foram: "tapioca", "amido de milho" e "tapioca + amido de milho" (Tabela 10).

A variável preditor sensorial "trabalho de cisalhamento" foi escolhida porque essa propriedade físico-mecânica é um preditor da característica sensorial "espalhabilidade". Quanto menor o trabalho de cisalhamento, maior a espalhabilidade da formulação.

Vinte e sete análises foram realizadas em triplicata (Tabela 11), para um total de 81 experimentos. O projeto estatístico e o planejamento foram avaliados usando o software Minitab® 17 (Minitab Inc., State College, PA).

Tabela 10: Desenho dos parâmetros para o ensaio fatorial da base de amidos

Fatores	Níveis	-1	0	1
Concentração polissacarídeo	3	5%	7,5%	10%
Concentração de glicerina	3	3%	6%	9%

Tabela 11: Formulações desenvolvidas para o design fatorial da base cosmética utilizando amidos de milho e tapioca

Formulação	Amidos	Concentrações	Glicerina
1	Tapioca	5%	3%
2	Tapioca	7.5%	6%
3	Tapioca	10%	9%
4	Tapioca	10%	3%
5	Tapioca	5%	6%
6	Tapioca	7.5%	9%
7	Tapioca	7.5%	3%
8	Tapioca	10%	6%
9	Tapioca	5%	9%
10	Amido de milho	5%	3%
11	Amido de milho	7.5%	6%
12	Amido de milho	10%	9%
13	Amido de milho	10%	3%
14	Amido de milho	5%	6%
15	Amido de milho	7.5%	9%
16	Amido de milho	7.5%	3%
17	Amido de milho	10%	6%
18	Amido de milho	5%	9%
19	Tapioca+Amido de milho	5%	3%
20	Tapioca+Amido de milho	7.5%	6%
21	Tapioca+Amido de milho	10%	9%
22	Tapioca+Amido de milho	10%	3%
23	Tapioca+Amido de milho	5%	6%
24	Tapioca+Amido de milho	7.5%	9%

25	Tapioca+Amido de milho	7.5%	3%
26	Tapioca+Amido de milho	10%	6%
27	Tapioca+Amido de milho	5%	9%

7.1.7. Comparação da base cosmética com outros polímeros

A formulação 26 (Tabela 11) e outras duas formulações à base de hidroxietilcelulose (3%) e *Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer* (3%) foram submetidas a análise sensorial, por meio de um painel com quarenta participantes não treinados. Utilizamos 3% de hidroxietilcelulose (HEC) e na outra 3% de AAVC-P. Todas as formulações apresentavam a mesma quantidade de glicerina, butilenoglicol e conservantes de acordo com estudo posterior que buscou entender o comportamento físico-mecânico dessas formulações semi-sólidas do tipo gel (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2019).

O referido estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (CEP CAAE / FCFRP 58368416.6.0000.5403). Todos os participantes do estudo permaneceram em repouso em uma sala mantida em $(25\pm 1)^{\circ}$ C e 40% - 60% de umidade relativa durante 15 minutos antes da avaliação. Os mesmos receberam o equivalente a 24 μ g de formulação em uma área de 12 cm² na região do antebraço de forma aleatória e foram solicitados a aplicar o produto com um dedo e a espalhar a formulação com 10 movimentos circulares, logo após eles avaliaram as formulações de acordo com pegajosidade, espalhabilidade, sensação de absorção e sensação de hidratação em uma escala de zero a 10, sendo 10 total concordância com a referida característica.

Para a análise foi utilizado o Sistema de análise das propriedades físico-mecânicas modelo TA.XT/Plus 50 (Extralab Brasil, Jarinu, Brasil). O método utilizado para determinar a textura consiste na inserção de um probe analítico na amostra, duas vezes seguidas, com velocidade e profundidade definidas, levando ao período pré-definido de recuperação entre o fim da primeira compressão e o início da segunda. A partir do gráfico resultante de força (N) por tempo (t) serão obtidos os seguintes parâmetros: coesividade, consistência, firmeza e índice de viscosidade. Os testes foram realizados durante um mês a cada 7 dias após o desenvolvimento da formulação (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017).

A microestrutura da formulação de amidos e a presença de fases líquido-cristalinas foram visualizadas em um microscópio de luz: primeiro, sob o campo claro e, segundo, sob luz polarizada (usando polarizadores cruzados). O fotomicroscópio (DMLP / DC 300, Leica

Microsystems, Wetzlar, Alemanha) foi equipado com uma câmera, um multiplicador (x10) e o software Leica IM 1000 (versão 1.20 Release 19). As fotos foram obtidas com aumento de 50x (CALIXTO et al., 2018).

7.1.8. Desenvolvimento de formulação formadora de filme

Após a escolha da formulação 26 para o desenvolvimento da base cosmética, foi desenvolvida uma formulação com características físico-mecânicas mais desejáveis para a formação de filme na pele. Para tal utilizou-se a formulação 26 adicionando 2% de PEG-75 Lanolin na formulação antes do aquecimento. O perfil reológico foi avaliado utilizando a metodologia apresentada em 7.1.3 e foi estudada a influência do comportamento reológico no sensorial, bem como na formação de filme na superfície da pele. A formação de filme foi avaliada utilizando metodologias de biofísica e imagem da pele.

Para o estudo das propriedades filmógenas das formulações cosméticas foram realizadas análises na região anterior dos antebraços de 10 participantes. Foram avaliados os parâmetros: perda transepidérmica de água (TEWL), hidratação do estrato córneo e imagens de microscopia confocal de reflectância a laser. Três regiões foram demarcadas no antebraço posterior dos 10 participantes. Uma delas em uma região controle, ou seja, que não recebeu nenhuma formulação, limpa, outra após 30 minutos da aplicação da formulação (em uma área onde fosse depositada 2mg/cm²). Foram analisadas as seguintes condições do estrato córneo: distância dos sulcos e a presença de filme visível, bem como a área das células do estrato granuloso com o auxílio do software Image J. Os resultados foram comparados com a análise reológica e demais resultados com técnicas de biofísica e imagem da pele.

7.1.9. Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras

Devido ao estudo de eficácia contra óleos essenciais foi solicitado pelo comitê de ética a distribuição de formulação fotoprotetora que seria utilizada pela manhã. Para isso desenvolvemos duas formulações fotoprotetoras como emulsões óleo em água, com a fase aquosa e a fase oleosa separadas por peso. Foram utilizadas as bases desenvolvidas previamente: amidos em associação e a da formulação formadora de filme. A fase aquosa consistiu em amidos de milho e tapioca (modificadores reológicos), glicerina vegetal (umectante), EDTA dissódico (quelante iônico) e água. Na fase oleosa os filtros UV (Bis-Etilhexiloxifenol Metoxifenil Triazina, Octil Metoxicinamato), diestearato de poligliceril-6 (emulsificante) e hidroxitolueno butilado (antioxidante da fase oleosa) foram adicionados.

Ambas as fases foram aquecidas a aproximadamente 70 ° C, sendo a fase aquosa adicionada à fase oleosa com um agitador mecânico. Para a formulação F2, a lanolina PEG-75 foi adicionada na fase aquosa antes do aquecimento.

Após 10 minutos de agitação, o conservante disperso em butilenoglicol (umectante) foi adicionado às formulações e agitado durante mais 5 minutos. Após este tempo, Tinosorb M foi adicionado e agitado por mais 5 minutos. Ao final, as formulações finais foram embaladas e armazenadas para estabilidade térmica à temperatura ambiente, 37° C e 45° C, por 3 meses (GUARATINI, GIANETI & CAMPOS, 2006). As formulações foram estudadas de acordo com a textura e reologia, sendo utilizada a mesma corrida reológica já apresentada para a base de amidos (Tabela 12).

Um FPS 30 teórico foi calculado usando o simulador de filtro solar BASF (BASF, 2009) de acordo com os filtros UV selecionados e suas concentrações.

Tabela 12: Formulações de fotoprotetores desenvolvidos nesse estudo. As diferenças entre as formulações estão apresentadas em destaque nas composições

	F1	F2
Amido de tapioca	5%	5%
Amido de milho	5%	5%
Butilenoglicol	4%	4%
PEG-75 lanolina	-	2%
Poliglycerl-6-distearato	3%	3%
Glicerina	3%	3%
Fenoxietanol e parabenos	0.8%	0.8%
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	6%	6%
Octyl metoxicinamato	6%	6%
Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol (and) aqua (and) decyl glucoside (and) propyleneglycol (and) xanthan gum	6%	6%
EDTA	0.1%	0.1%
BHT	0.1%	0.1%
Água	61%	59%

7.1.10. FPS *in vitro*

Para testar cada formulação, $1,3 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ das amostras foram aplicadas em três placas de polimetilmetacrilato (6 μm PMMA Helioplates HD6, 25 cm^2 , Labsphere, EUA), e sete medidas de transmissão foram realizadas em cada placa na faixa de comprimento de onda de 290 –400 nm, usando um espectrofotômetro equipado com uma esfera integradora. Para garantir a correta densidade de aplicação, os pratos foram pesados antes e após a aplicação do produto (quantidade total 32,5 mg). As amostras puderam repousar por 15 minutos no escuro e em temperatura ambiente para garantir o auto nivelamento da formulação (SOUZA & CAMPOS, 2017). Este experimento foi conduzido de acordo com a recomendação HELIOPATE HD 6 (50 mm \times 50 mm) cerca de 6 microns de rugosidade, de acordo com as normas ISO 24443, COLIPA Rev. 2011 e FDA Final Rule 2011 (FDA e COLIPA, 2011). As medidas *in vitro* do FPS foram realizadas pela *ChemUnion Company* em Sorocaba, São Paulo, Brasil. Nessa etapa foram avaliadas as formulações F1 e F2.

7.1.11. Penetração de filtros UV através do estrato córneo em modelo *ex vivo*

O procedimento de *tape stripping*, com filme adesivo, foi iniciado 30 minutos após a aplicação das emulsões de protetor solar. As fitas com 6 cm de comprimento foram aplicadas centralmente dentro da área tratada e o procedimento foi realizado na mesma área por vinte fitas. As fitas foram prensadas contra a pele de orelha de porco dez vezes usando um rolo e removidas com um movimento rápido. As fitas foram adicionadas em um quadro especial para serem analisadas, após 24 h, pelo espectrômetro UV/VIS Lambda 650 para registrar os espectros entre 250 e 500 nm na porta do feixe linear. As tiras de fita removidas foram medidas com um branco no feixe de referência. Os experimentos foram realizados em seis diferentes orelhas de porco e o 430 nm foi utilizado como marcador de absorção do estrato córneo (JACOBI et al., 2005; WEIGMANN et al., 2005). O procedimento foi realizado para as formulações F1 e F2.

Após a medição com espectroscopia UV/VIS, as fitas foram cortadas no comprimento de 4,3 cm \times 1,5 cm e, a seguir, colocadas em um tubo de ensaio com 6,45 mL de Etanol. Os tubos foram tratados por 10 minutos em banho ultrassônico. As soluções foram centrifugadas (10 min, 4000 c/s) e pequenas partículas da camada córnea foram removidas por decantação da parte superior. A solução límpida da parte superior foi adicionada a uma cubeta de quartzo de 1 mm de comprimento. Os espectros foram medidos entre 250 e 400 nm usando o solvente puro (etanol) como referência (WEIGMANN et al., 2005).

7.1.12. Perfilometria da superfície da pele

A estrutura da superfície da pele foi medida com um perfilômetro 3D de superfície sem contato “PRIMOS”. No presente estudo, o perfilômetro 3D foi utilizado para o entendimento da rugosidade superficial após a aplicação do fotoprotetor, pois quanto maior a capacidade de formação de filme, melhor é a redução da rugosidade superficial. Para esta parte do estudo foram utilizadas oito orelhas de porco *ex vivo* e ambas as formulações foram aplicadas em áreas diferentes, sempre respeitando a condição de 2 mg/cm² (STRESE et al., 2011). Essa metodologia foi aplicada para as formulações F1 e F2.

7.1.13. Tomografia de dois fótons com imagem de fluorescência (TPT/FLIM)

A imagem TPT/FLIM foi realizada com um dispositivo Dermainspect equipado com um laser de safira Ti: femtossegundo ajustável. O laser foi operado a 760 nm e gerou pulsos de 100 fs a uma taxa de repetição de 80 MHz (SHIRSHIN et al., 2018). Utilizamos a técnica TPT/FLIM para obter imagens da estrutura das formulações cosméticas (F1, F2) para uma melhor compreensão da correlação entre a microestrutura e as propriedades formadoras de filme. Para tanto, uma pequena gota foi espalhada em uma lâmina microscópica e imagens FLIM com excitação de dois fótons (TPE-FLIM) foram adquiridas com uma potência de 3 mW e um tempo de aquisição de 6,8 segundos. As imagens TPE-FLIM foram processadas usando o software SPCImage versão 8.0 (Becker & Hickl, Berlin, Germany).

7.1.14. Espectroscopia de refletância difusa (ERD) para determinar a homogeneidade do protetor solar na pele

Cinco amostras frescas de pele de orelha de porco foram lavadas em água fria e secas com um pano macio. Uma área de 4 cm x 4 cm foi selecionada para o experimento para cada formulação de filtro solar. Foram aplicados 2 mg/cm² das formulações F1 e F2 (32 mg) com luva saturada, colocada no protetor solar 10 minutos antes da aplicação da amostra na orelha do porco. As orelhas de porco com filtro solar foram armazenadas 30 minutos antes do início das medições de refletância. A refletância da pele sem protetor solar foi medida em 20 posições a pelo menos 0,5 cm da área com protetor solar, antes da aplicação, na mesma amostra de orelha de porco. A refletância da pele com protetor solar foi medida em 30 posições dentro da área de 4 cm x 4 cm na qual o protetor solar foi aplicado. Uma sobreposição de posições de medição foi estritamente evitada. A sonda de fibra foi colocada perpendicularmente à pele em contato direto durante a medição e foi limpa com ultrassom em etanol após cada medição. Valores de transmitância foram obtidos para cada filtro solar e analisamos as diferenças na transmitância,

bem como o desvio padrão para cada creme (REBLE, MEINKE & RASS, 2018; REBLE et al., 2018).

7.1.15. Proteção de radicais livres gerados pela luz visível em modelo de pele *ex vivo*

Essa etapa foi realizada para entender se a formulação de protetor solar tem a capacidade de proteger para além da radiação UV, focando em proteção de luz visível, desenvolvendo um produto com capacidade multifuncional, adequado ao público masculino. Antes do teste em pele de orelha de porco foi também conhecido o FPRL das formulações, com metodologia apresentada no segundo capítulo dessa tese.

Antes dos experimentos, a pele foi limpa com água fria e seca com toalhas de papel. As cerdas da pele da orelha de porco foram cortadas e a pele foi removida da cartilagem. Para cada experimento, duas biópsias por punção ($\varnothing = 8$ mm) foram retiradas da pele desnudada.

Posteriormente, dois discos de papel de filtro foram colocados em uma placa e embebidos com 150 μ L de solução 1.0mM de solução carboxi-2,2,5,5-tetrametilpirrolidina-1-oxil (PCA). A placa foi encubada em estufa a 32°C por 5 minutos. Após o procedimento, outra biópsia foi feita nessa mesma amostra, com punção de 4mm. A amostra de pele embebida em PCA foi alocada em uma placa de vidro própria para as medidas de EPR e depois foi inserida dentro do aparelho.

Para as amostras com formulações fotoprotetoras, a mesma lógica apresentada acima foi seguida, porém a pele removida da cartilagem recebeu a formulação fotoprotetora com massagem, 30 minutos antes da primeira punção de biópsia. De acordo com o procedimento padrão COLIPA, 2 mg/cm² de cada formulação foram aplicados nas peles. Cada experimento foi repetida, em pelo menos duas amostras do mesmo tecido. Foram utilizadas 6 orelhas de porco.

Para calcular a formação de radical para cada creme, as amostras foram irradiadas por 15 min com luz visível. Primeiro foi medida a intensidade de spins correlacionados ao PCA durante 15 minutos sem a irradiação da luz visível (22 medidas) e depois, ao ligar a luz visível, por mais 15 minutos (22 medidas). O declínio da intensidade do EPR do controle foi subtraído da amostra irradiada.

7.1.16. Propriedades ópticas dos fotoprotetores

A refletância total R_d e a transmissão total T_t de 100 μm das amostras foram medidas na faixa de comprimento de onda 400–800 nm usando um espectrômetro de esfera integradora, que é comparável ao Lambda 900 descrito em detalhes por Meinke e colaboradores (2011), mas tem um detector InGaAs que é significativamente mais sensível na faixa NIR. O Lambda 1050 é um espectrômetro de dois feixes com um sistema de monocromador duplo. A fonte de luz usada consiste em uma lâmpada halógena de tungstênio para a faixa visível. A intensidade da luz foi adaptada ao comportamento de absorção da amostra para manter a intensidade do sinal na faixa ótima dos detectores. A cubeta pode ser fixada em uma posição definida a uma distância constante da abertura da esfera, na frente ou atrás da esfera integradora, a fim de medir os espectros de transmitância ou refletância. Para a medição de T_t , a porta de refletância foi fechada com um padrão Spectralon[®] de reflexão difusa. O R_t foi medido em relação ao padrão de refletância substituindo o padrão especial Spectralon[®] por um espectro de refletância conhecido e certificado pela amostra, que é inclinado em um ângulo de 8° em relação à luz que entra. Esta configuração experimental permite a medição da distribuição macroscópica da radiação com um potencial de erro extremamente reduzido.

Os parâmetros ópticos μ_a e μ_s' foram calculados por simulação Monte Carlo (iMCS). O iMCS usa simulações Monte Carlo diretas iterativamente para calcular os parâmetros ópticos μ_a e μ_s' com base em uma dada função de fase e os valores medidos experimentalmente para reflexão e transmissão (R_tM e T_tM). O iMCS usa um conjunto inicial de μ_a e μ_s' para calcular a refletância simulada resultante e os valores de transmissão R_t e T_t . Esses valores são então comparados com os valores médios, medidos experimentalmente. Por variação sistemática de μ_a e μ_s' , o desvio dos valores de R_t e T_t simulados em relação aos medidos é minimizado até que um conjunto de parâmetros ópticos seja encontrado, onde os desvios estão dentro de um limite de erro de 0,20%. Para o índice de refração das formulações, foram usados os valores de água e um espalhamento isotrópico foi usado para calcular μ_s' .

7.1.17. Pesquisa e desenvolvimento de formulações com óleos essenciais

De acordo com as respostas obtidas com a aplicação do questionário, foi desenvolvido um *briefing* de um produto cosmético para o público masculino. Com essas orientações, selecionamos os ingredientes e as estratégias para entender o comportamento do homem frente à utilização de produtos cosméticos. Em seguida, um desenho experimental foi proposto para melhorar o desempenho e a estabilidade da formulação cosmética.

O desenho de experimentos é uma estratégia estatística que permite otimizar processos experimentais e racionalizar a decisão quanto ao desenvolvimento cosmético. Ele permite o estudo simultâneo dos efeitos de diferentes variáveis em uma resposta, neste caso, como ingredientes e processos podem melhorar a estabilidade de produtos cosméticos. Um planejamento experimental fatorial completo geral com três níveis foi elaborado para o copolímero e emoliente em estudo. Para avaliar a influência da presença e concentração dos ingredientes nas formulações, foram definidos dois fatores numéricos contínuos: concentração de Carragena Iota (0%, 0,5% e 1%) e concentração de Óleo de Argan (0%, 1% e 2 %). Além disso, a velocidade de agitação foi definida como uma possível variação (variações do processo) e as velocidades estudadas foram 800 rpm, 1200 rpm e 1600 rpm, sendo um estudo 3³. A variável preditora de estabilidade “firmeza” foi escolhida porque esta propriedade físico-mecânica é um preditor da estabilidade de produtos cosméticos.

Os resultados foram comparados entre concentrações, concentrações e agitação, velocidade e quanto à presença e/ou combinação dos ingredientes. Vinte e sete formulações foram desenvolvidas no total e foram analisadas por TA.XT plus Texture Analyzer (Stable Microsystems, Reino Unido) equipado com a sonda *Back Extrusion ring A/BE* 35 mm. A formulação proposta após os experimentos fatoriais encontra-se na tabela 6. Foram adicionados óleos essenciais de *M. alternifolia*, *L. angustifolia*, *C. reticula* e *E. globulus* na formulação veículo, além de nanoemulsão de *M. alternifolia* (Tabela 13). As formulações apresentadas foram utilizadas em estudo de eficácia clínica de cosméticos.

Tabela 13 – Formulações desenvolvidas para o estudo de eficácia clínica

	FV	3OE	4OE	Nano	Melaleuca
Amido de tapioca	5%	5%	5%	5%	5%
Amido de Milho	5%	5%	5%	5%	5%
Butilenoglicol	3%	3%	3%	3%	3%
Óleo de Argan	2%	2%	2%	2%	2%
Carragena Iota	1%	1%	1%	1%	1%
Poligliceril distearato	3%	3%	3%	3%	3%
Glicerina vegetal	6%	6%	6%	6%	6%
<i>M. alternifolia</i>	-	-	0.5%	-	2%
<i>L. angustifolia</i>	-	0.67%	0.5%	-	-
<i>E. globulus</i>	-	0.66%	0.5%	-	-
<i>C. reticulata</i>	-	0.66%	0.5%	-	-
Nanoemulsão	-	-	-	2%	-
Fenoxietanol e parabenos	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%
EDTA	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
BHT	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Água	Qsp 100%	Qsp 100%	Qsp 100%	Qsp 100%	Qsp 100%

7.2. RESULTADOS

Esse estudo contou com o desenvolvimento de 72 formulações, sendo 27 para o estudo fatorial visando entender a ação sinérgica de amidos, 27 para o outro estudo fatorial para o desenvolvimento das formulações com óleos essenciais, 3 fotoprotetores, 4 formulações com óleos essenciais e/ou nano emulsão e uma formulação formadora de filme (amidos + PEG-75 Lanolin). Duas formulações poliméricas foram desenvolvidas para comparação com os amidos. Nem todas as formulações mantiveram-se estáveis após três meses, especialmente as desenvolvidas para o estudo fatorial.

Entretanto, podemos destacar a formulação 26 do ensaio fatorial dos amidos, a formulação formadora de filme, a formulação veículo do ensaio fatorial da formulação do clínico, bem como os outros quatro grupos e os dois fotoprotetores como estáveis. Os resultados serão apresentados na ordem do desenvolvimento, começando pelo estudo dos amidos.

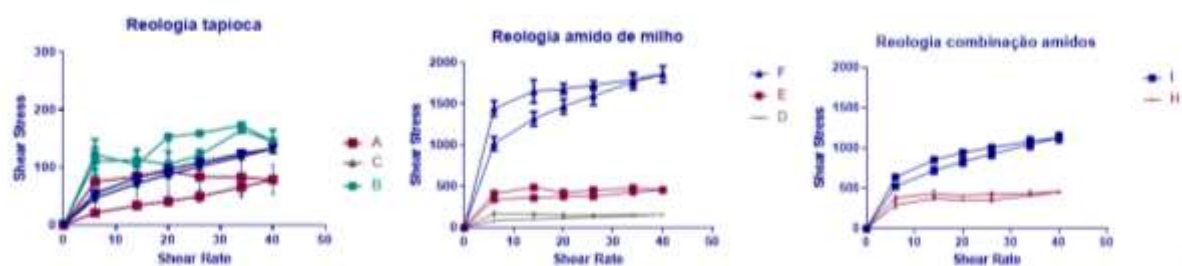
7.2.1. Pré-desenvolvimento de base cosmética utilizando amidos

Vinte e quatro horas após as formulações estarem prontas foram submetidas ao processo de centrifugação a 600g durante 30 minutos por três ciclos. Apenas a formulação G apresentou separação de fases, sendo prontamente descartada do estudo em questão.

As demais formulações passaram por medições do pH e todas estiveram com valores entre 4,8 e 5,5. Com isso, podemos inferir que as formulações apresentam faixas de pH compatíveis para o uso em cosméticos, ou seja, preparações tópicas.

As corridas reológicas foram realizadas em triplicata, pesando 0,5g de formulação e aplicando estresse mecânico de rotação por 5s, variando de 0 a 20 rpm em sete diferentes pontos. Foi também obtida a curva de volta a fim de obtermos informações sobre a área de histerese das formulações, bem como possíveis instabilidades (Figura 10).

Figura 10: Comportamento reológico das formulações na etapa de desenvolvimento inicial onde é possível observar que as curvas representadas as formulações C (tapioca); F (milho) e I (ambas) apresentaram a caracterização mais compatível para produtos cosméticos



Foi possível observar melhores reologias para as formulações com maiores concentrações de amidos isoladamente e na combinação dos amidos. A formulação com amido de milho foi considerada muito firme e a com apenas tapioca apresentou baixa viscosidade, mas a em combinação apresentou a melhor performance. Para entender se houve, ou não, uma ação sinérgica entre ambos os amidos nas características físico-mecânicas, foi desenvolvido um ensaio fatorial variando as concentrações dos amidos e da glicerina.

Dessa forma, foram comparadas as reologias das formulações descritas e realizados testes em longo prazo com estresse térmico. Não foram observadas alterações significativas no pH das formulações após 3 meses, mesmo sob estresse térmico. Após 1 mês de estudo, a formulação C, com amido de milho, apresentou um aumento muito expressivo de viscosidade e perdendo sua característica reológica. Dessa forma, não foi dado prosseguimento com essa formulação nos demais meses de estudo. Para a formulação apenas com tapioca, após três meses houve uma perda de viscosidade muito grande.

7.2.2. Desenvolvimento fatorial 3³ para a base cosmética com amidos

Vinte e sete formulações foram desenvolvidas variando as concentrações de amidos de amido de milho, tapioca e ambos em combinação. Em formulações contendo amido de milho, a concentração de glicerina não implicou grandes mudanças na resposta. Quando presente em uma concentração de 6% nestas formulações, a glicerina não influencia o trabalho de cisalhamento de maneira significativa ($p < 0,05$). Em contraste, todas as alterações na concentração de polissacarídeos causaram mudanças significativas nos resultados.

Os resultados obtidos com o amido de tapioca foram semelhantes aos obtidos com o amido de milho. Altos aumentos na resposta foram observados com o aumento da concentração do polissacarídeo de tapioca, principalmente a 10%. A glicerina não apresentou grandes alterações na resposta, principalmente na concentração de 6%, que não teve influência significativa ($p < 0,05$).

Em relação à interação entre variáveis, a combinação de baixas concentrações de tapioca com glicerina proporcionou baixos valores de trabalho de cisalhamento e, portanto, melhor disseminabilidade. A concentração de tapioca de 10% em combinação com glicerina produziu resultados diferentes, enquanto todas as outras concentrações não tiveram efeito.

A presença combinada de Amido de Milho e Tapioca na formulação aumentou os valores de cisalhamento, indicando um declínio na espalhabilidade. Da mesma forma, o amido de milho influenciou mais esses valores do que a glicerina. A glicerina a 6% ou 9% apresentaram o mesmo efeito no ensaio fatorial, sendo melhores do que a 3% - a quantidade utilizada na formulação I no primeiro momento de desenvolvimento da base cosmética.

Podemos observar que a associação sinérgica entre amidos a e glicerina a 6% é a melhor candidata para o desenvolvimento de uma formulação cosmética com as características desejadas (Figura 11). Dessa forma, foi prosseguido, o estudo da estabilidade em longo prazo

da formulação com ambos os amidos a 5% e glicerina a 6% e estudo do comportamento reológico (Figura 12).

Figura 11: Gráficos fatoriais de efeitos principais das concentrações dos Polissacarídeos e da Glicerina sobre a resposta “work of shear”

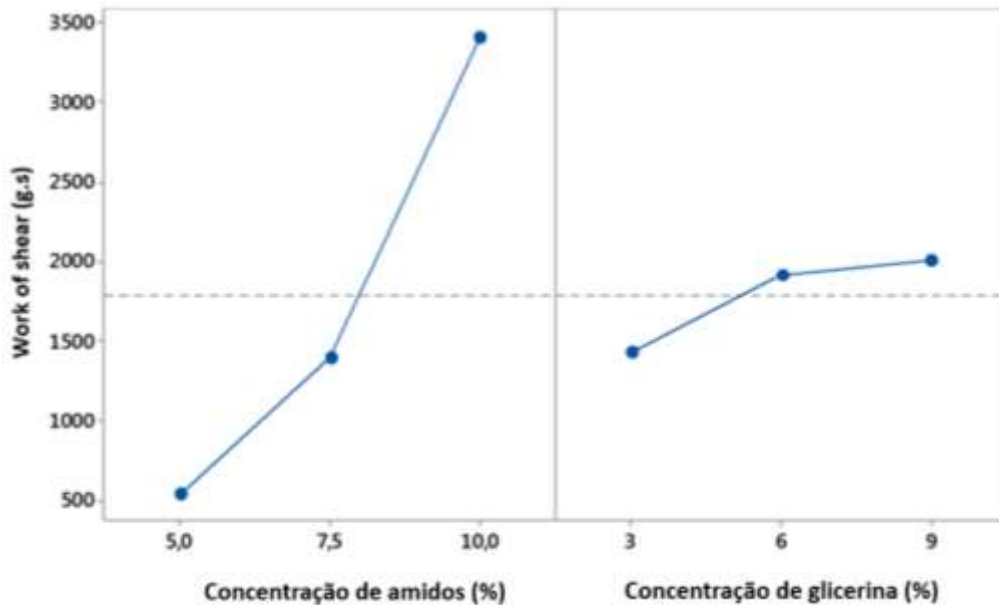
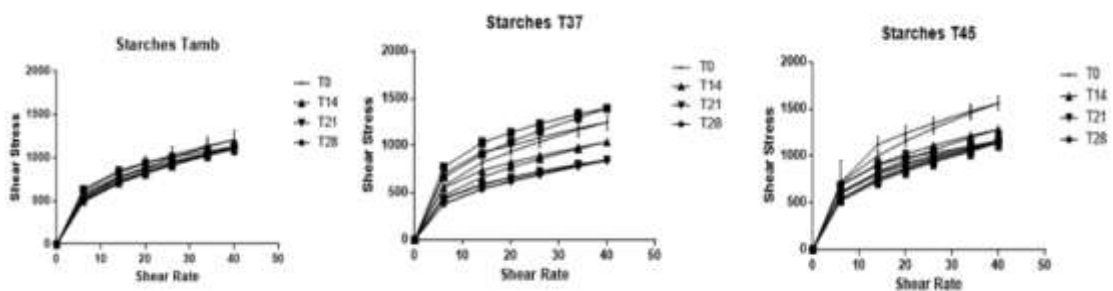


Figura 12: Comportamento reológico da formulação com amidos de milho e tapioca com a melhor resposta no ensaio fatorial e submetidos à ensaios de estabilidade nas temperaturas ambiente, 37 ° C e 45 ° C



Foi possível notar um comportamento pseudoplástico da formulação com a presença de baixa tixotropia. A formulação não exibiu grandes variações no comportamento reológico, especialmente à temperatura ambiente. Embora haja uma diminuição na viscosidade aparente mínima – ponto mais alto da curva reológica, especialmente entre as submetidas ao estresse térmico, o comportamento da curva reológica não se alterou durante o tempo de estudo. Assim, a fórmula demonstrou-se estabilidade.

Como a formulação apresentou possíveis aplicações na cosmética foi elaborada uma patente com auxílio da Agência USP de Inovação com o título “Base cosmética e processo de obtenção da mesma” a qual foi depositada no INPI (Instituto Nacional de Propriedade Intelectual) sob número BR1020170257452. O estudo fatorial foi importante para o desenvolvimento correto de uma formulação cosmética versátil que pudesse dar continuidade ao doutorado.

7.2.3. Comparação da base cosmética com outros polímeros

Foi possível observar que a base de amidos e o AAVC-P foram os polímeros mais bem avaliados na análise sensorial (Figura 13). Apesar disso, a base de amidos foi avaliada como não pegajosa. A formulação de hidroxietilcelulose apresentou o pior resultado em comparação com as demais.

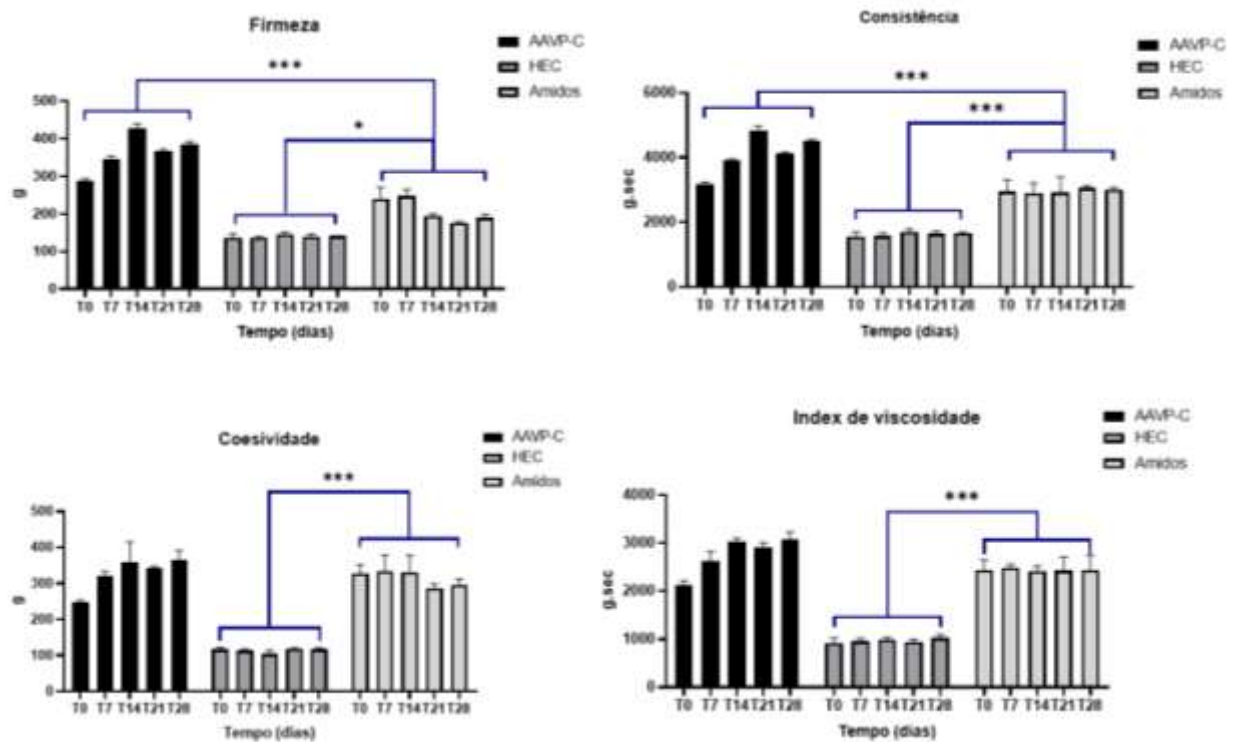
Figura 13: Avaliação das características sensoriais das formulações à base dos polímeros HEC e AAVC-P



Com relação às características físico-mecânicas, podemos observar que não foram encontradas variações para as formulações após 28 dias, exceto para a formulação de polímero de origem sintética que apresentou variações mais expressivas durante a análise. Comparando entre as diferentes formulações, observamos que a base de amidos foi superior à hidroxietilcelulose em todas as análises e comparável ao Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer em relação aos parâmetros index de viscosidade e

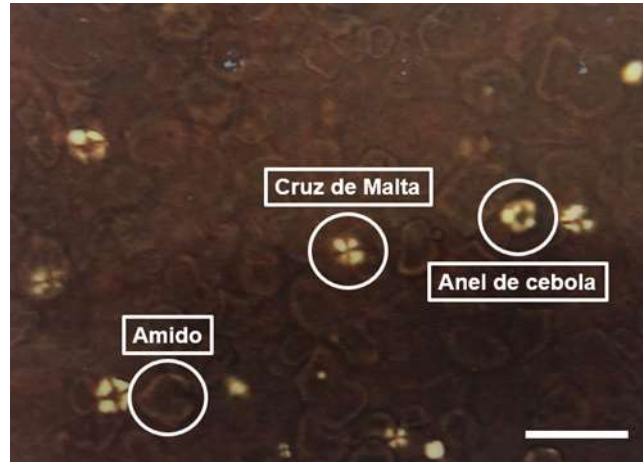
consistência. Para os parâmetros firmeza e coesividade, a formulação de polímero de origem sintética apresentou diferença em relação à formulação de amidos (Figura 14).

Figura 14: Características físico-mecânicas das formulações tipo gel em comparação com a formulação de amidos, onde (*) representa $p < 0,05$ comparando os 28 dias da formulação de amidos com a HEC no parâmetro firmeza e (***) representa $p < 0,001$ para todos os demais parâmetros comparando HEC com os amidos e comparando o AAVP-C com os amidos nos parâmetros firmeza e consistência



Utilizando um polarizador, foi possível pesquisar indicativos de fase lamelar: foram encontradas estruturas de "cruz de Malta" e "anéis de cebola" na formulação 26 com amidos. Também foi possível observar os grânulos de amido no fundo da fotografia (Figura 15).

Figura 15: Micrografias sob a luz polarizada da formulação de amido, sendo possível observar a formação de indicativos de fase lamelar. No fundo é possível observar os grânulos de amido dispersos (a barra de escala corresponde a 100 μm).



7.2.4. Desenvolvimento e avaliação de formulação formadora de filme

A adição de PEG-75 Lanolin alterou os parâmetros reológicos da formulação 26 (Figura 16). Foi possível observar redução da viscosidade mínima aparente, porém com uma interessante redução da área de histeresse do reograma.

Nas medidas de biofísica para a avaliação dos parâmetros de hidratação foi observada uma redução significativa da TEWL em comparação à medida basal e ao grupo controle. Ainda, não houve alteração na quantidade de água do estrato córneo, porém a região controle apresentou significativa redução após 30 minutos, não sendo observado o mesmo comportamento para a região onde a formulação foi aplicada (Figura 17).

Figura 16: Comportamento reológico da formulação formadora de filme (Filme) em comparação com a formulação à base de amidos (26)

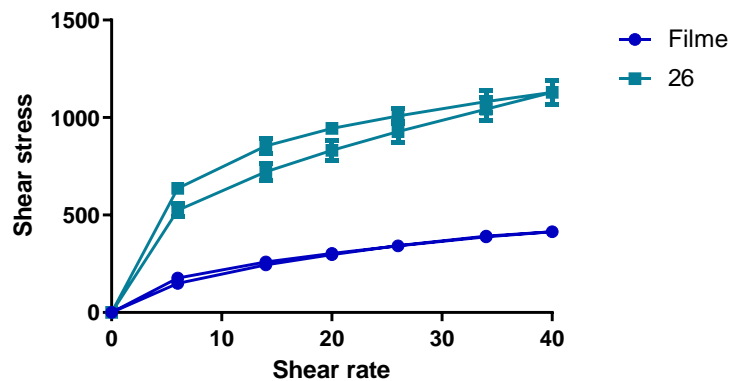
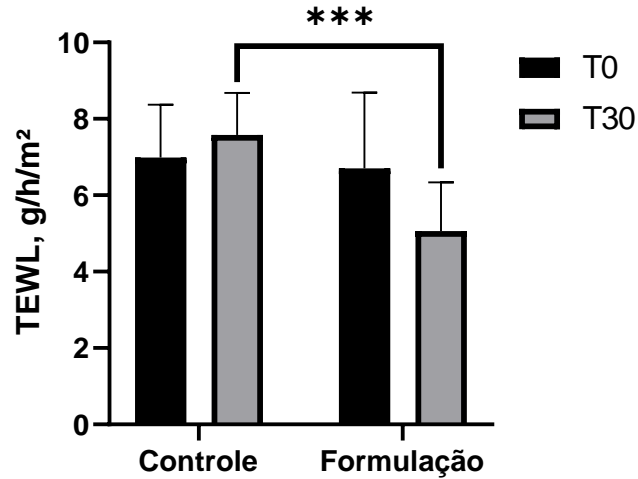
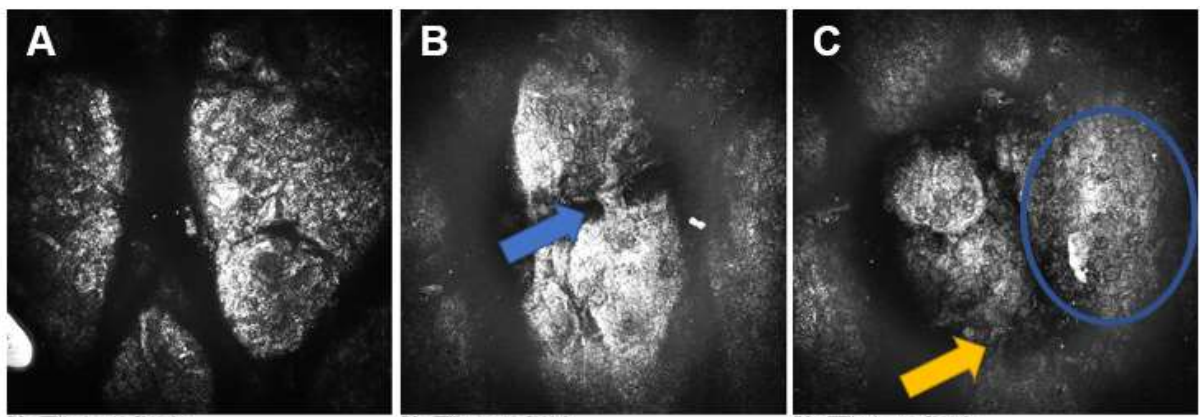


Figura 17: Perda transepidermica de água (TEWL) para as regiões controle e de aplicação da formulação formadora de filme. Onde (***) é relativo à significância do teste ANOVA entre os tempos e regiões, sendo significativo em comparação com o controle. Tempo em minutos



Com relação ao estudo com microscopia confocal foi possível observar aumento no brilho do estrato córneo, bem como redução nos sulcos do estrato córneo para a região em que foi aplicada a formulação formadora de filme. Foi possível, inclusive, observar a presença da formulação depositada na camada superior do estrato córneo. Além disso, é possível notar a deposição da formulação em sulcos do estrato córneo (Figura 18).

Figura 18: Imagens de MCR do estrato córneo da região controle (A) e da aplicação da formulação formadora de filme (B e C). As setas azuis indicam a deposição de formulação na superfície do estrato córneo e a seta amarela a deposição da formulação nos sulcos do estrato córneo



7.2.5. Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras e avaliação de sua performance

O desenvolvimento da formulação formadora de filme foi aplicado ao desenvolvimento de formulações fotoprotetoras. F1 não apresenta PEG-75 lanolina e F2 apresenta, sendo a única diferença entre elas. Essa parte foi dividida em 2 partes: a primeira foi tentar entender a influência da utilização de PEG-75 lanolina nos resultados obtidos; a segunda foi entender as propriedades ópticas, proteção de luz visível e atividade antioxidante. Ambas as formulações foram consideradas estáveis nas avaliações organolépticas sob estresse térmico.

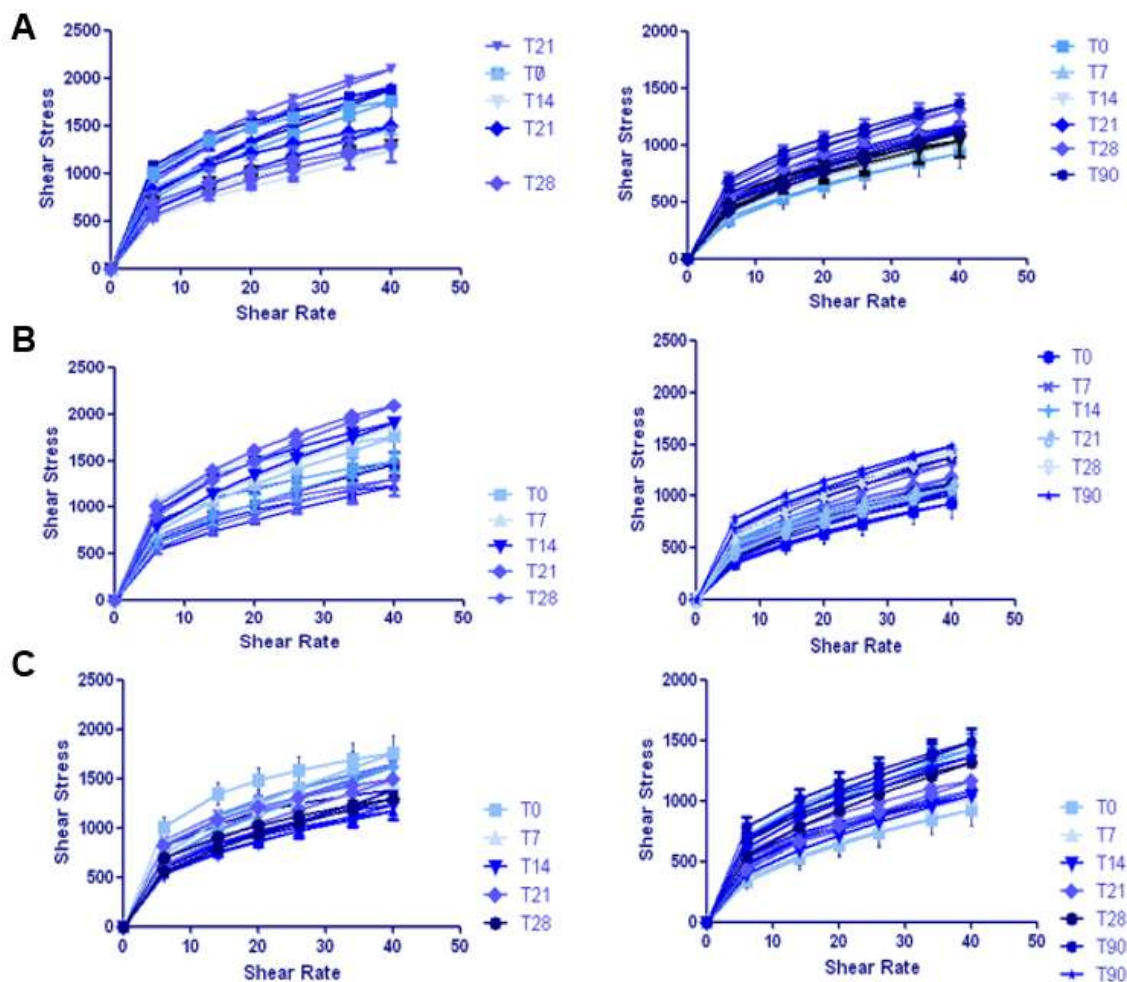
7.2.5.1. Avaliação da homogeneidade de dispersão na superfície da pele e impactos na eficácia da formulação fotoprotetora em relação ao FPS

O comportamento reológico das formulações F1 e F2 é apresentado na figura 19. A formulação F2 apresentou comportamento reológico mais consistente e reprodutível durante o período, com valores tixotrópicos menores e mais constantes (Tabela 14). Além disso, foi detectado que após 21 dias a reologia para a formulação F1 não poderia mais ser realizada à temperatura ambiente, uma vez que o torque era superior a 100%. Para F2 a reologia pôde ser realizada mesmo após 90 dias sem alterações significativas no comportamento. Ambas as formulações apresentaram aumento na viscosidade mínima (ponto mais alto da curva), porém isso é esperado para emulsões em escala laboratorial de desenvolvimento.

Tabela 14: Área de histerese das formulações F1 e F2 em 24h, 7, 14, 21 e 28 dias após o desenvolvimento (R1) e à temperatura ambiente 37 ° C (R2) e 45 ° C (R3). NM - não medido

F1, temperatura amb.	24h	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	28 DIAS
Média	7156	7388	4389	3220	NM
DP	69	22	22	66	NM
F2, temperatura amb.	24h	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Média	1572	1791	1952	2198	1731
DP	27	20	49	64	63

Figura 19: Reogramas das formulações F1 (esquerda) e F2 (direita) para as temperaturas ambiente (A), 37° (B) e 45°C (C) respectivamente

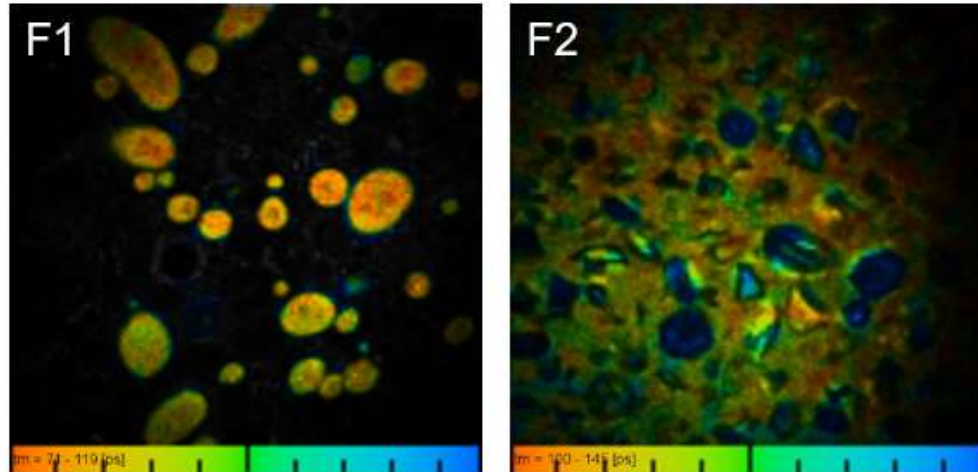


Os espectros de UV foram mais estáveis para F2 em comparação com F1. O comprimento de onda crítico (λ_c) é praticamente o mesmo para os dois filtros e tem valores comparáveis (F1 = 380 nm; F2 = 378,5 nm), pois correspondem a mais de 90% de absorção na região do UV. A relação UVA/UVB também está em boas proporções (F1 = 0,67; F2 = 0,7). Esses valores estão de acordo com os valores esperados, pois a composição de ambas as formulações é a mesma em termos de quantidade e tipo de filtros UV (18%). Os valores de FPS *in vitro* foram $87,8 \pm 22,1$ para F1 e $99,4 \pm 5,1$ para F2. No entanto, surpreendentemente, *in vivo* encontramos valores para o FPS de $55,3 \pm 2,3$ para a formulação F2 e $36,1 \pm 6,2$ para F1. A diferença entre o FPS em ambas as formulações foi considerada significativa ($p < 0,001$).

As formulações fotoprotetoras apresentaram diferenças na distribuição espacial em superfície lisa de acordo com as imagens obtidas com o TPT/FLIM. Foi possível observar a

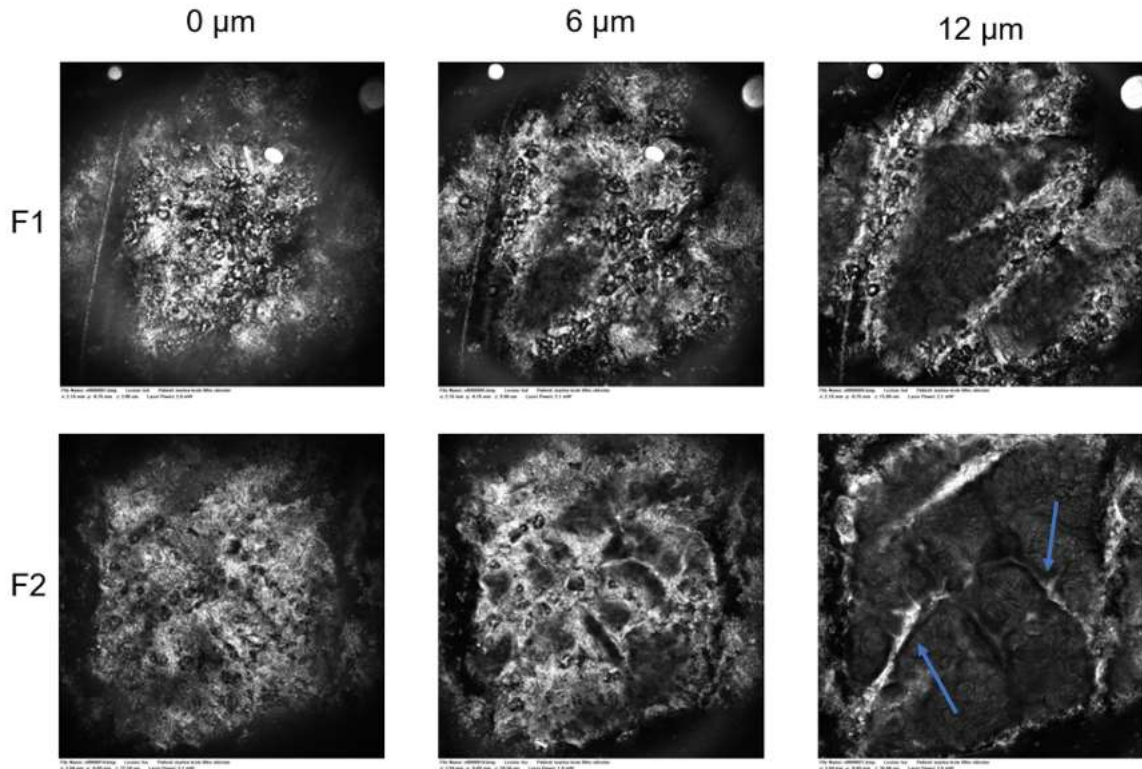
formulação F1 apresentada em gotículas, enquanto F2 constrói uma melhor cadeia polimérica permitindo uma cobertura superficial mais homogênea (Figura 20).

Figura 20: Imagens TPT/FLIM das formulações F1 e F2 respectivamente onde é possível observar uma melhor distribuição da formulação F2 na superfície de vidro quando comparada à formulação F1. Adaptado de Infante et al, 2021a



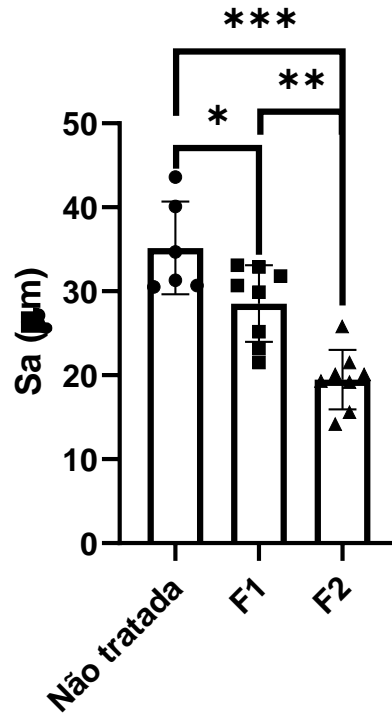
Utilizando a MCR foi possível observar um perfil de dispersão semelhante para as formulações F1 e F2, porém diretamente na superfície da pele. A formulação F2, inclusive, apresenta uma melhor interação com a superfície da pele do que a formulação F1. Ambas as formulações de protetor solar quando aplicadas na quantidade de $2\text{mg}/\text{cm}^2$ apresentam espessura de $12\mu\text{m}$ na superfície da pele. Ambas podem se depositar nas áreas do sulco da pele, mas a formulação F2 aparece com maior interação (Figura 21).

Figura 21: Imagens representativas obtidas por MCR de cada formulação de protetor solar quando aplicada na superfície da pele em profundidades diferentes. A seta azul indica a interação da formulação F2 com a pele.



Avaliamos a perfilometria da superfície cutânea com pele de orelha de porco *ex vivo* para os valores de rugosidade superficial (S_a) 30 minutos após a aplicação do protetor solar. Uma diminuição no parâmetro de rugosidade para ambas as formulações foi observada em comparação com a superfície da pele não tratada, mas para F2 a diminuição foi mais pronunciada (Figura 22). De fato, observou-se diferença entre F1 e F2 ($p = 0,002$).

Figura 22: Valores de rugosidade da pele (Sa) obtidos ex vivo para cada formulação; (*) significa diferença significativa ($p < 0,05$); (**) diferença significativa ($p = 0,002$) e (***) diferença significativa ($p < 0,001$)



Não foram observadas diferenças entre os perfis de penetração dos filtros de UV do estrato córneo de ambas as formulações (Tabela 15). Ambos, F1 e F2, apresentaram mais de 80% dos filtros UV até a fita 5, o que significa 20% da espessura do estrato córneo.

Tabela 15 - Dados de perfil de penetração de formulações F1 e F2 das fitas removidas sucessivamente pela metodologia de *tape stripping*

F1	Absorbância	Percentual	F2	Absorbância	Percentual
FITA 1	0,91	35,70%	FITA 1	0,71	29,31%
FITA 2	0,58	22,76%	FITA 2	0,53	21,83%
FITA 3	0,27	10,66%	FITA 3	0,33	13,90%
FITA 4	0,22	8,85%	FITA 4	0,21	8,65%
FITA 5	0,11	4,61%	FITA 5	0,17	7,35%
FITA 6	0,15	6%	FITA 6	0,12	5%
FITA 7	0,08	3,18%	FITA 7	0,13	5,38%
FITA 8	0,06	2,71%	FITA 8	0,07	3,20%
FITA 9	0,10	3,50%	FITA 9	0,06	3,00%
FITA 10	0,04	2%	FITA 10	0,04	2%

Foi possível observar que para todas as orelhas de porco utilizadas neste estudo, a transmitância na pele suína foi maior após o tratamento cutâneo com F1 utilizando a espectroscopia de refletância difusa. A variação padrão também foi maior para esta formulação. Para F1 o valor de transmitância foi de $0,069 \pm 0,043$ e para F2 o valor foi de $0,021 \pm 0,014$.

7.2.5.2. Avaliação das propriedades ópticas, fator de proteção de radicais livres e proteção no espectro da luz visível

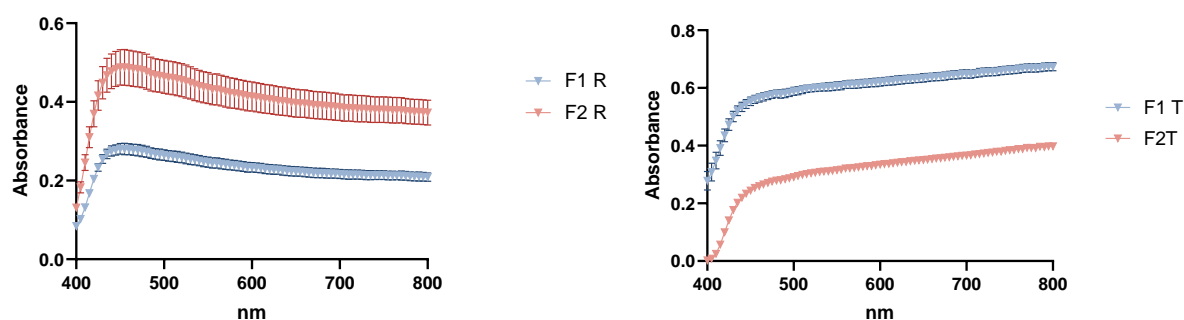
Ambas as formulações de fotoprotetores desenvolvidas e consideradas estáveis apresentaram alta proteção de radicais livres, porém com diferenças mais significativas entre F1 com relação à F2 (Tabela 16). A diferença dessa formulação é a ausência da PEG-75 Lanolina.

Tabela 16: FPS, fator de proteção de radicais livres (FPRL), coeficiente de espalhamento (μ_s') e coeficiente de absorção (μ_a) - ambos a 460 nm referente à luz azul - de acordo com a formulação do fotoprotetor

Formulação	FPS	FPRL [10^{14} radicals/mg]	μ_s' [mm^{-1}]	μ_a [mm^{-1}]
F1	36±6	155±4	10±3	0.4±0.1
F2	55±2	193±3	32±6	0.7±0.4

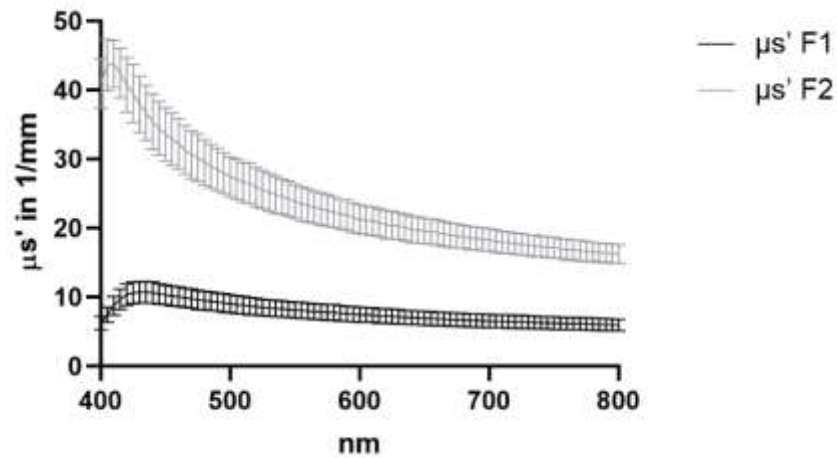
A transmitância e a refletância na região da luz visível foram obtidas para todas as formulações. F1 apresentou maior transmitância e menor refletância se comparado com F2. Após a (Figura 23).

Figura 23: Propriedades ópticas das formulações fotoprotetoras (reflectância e transmitância) (Média±SEM)



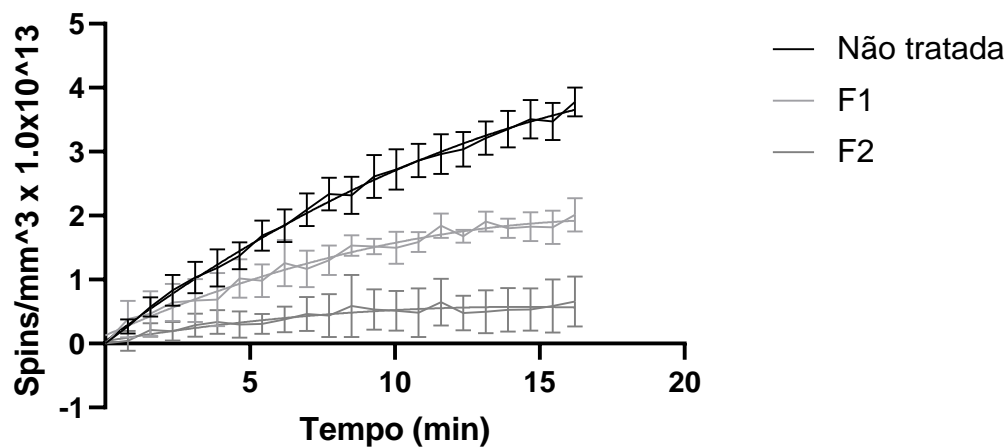
Usando a simulação de Monte Carlo, as propriedades ópticas dos fotoprotetores, como coeficiente de absorção e coeficiente de espalhamento efetivo, foram determinadas. Os coeficientes de absorção μ_a das formulações F1 e F2 ficaram abaixo de 1mm^{-1} para a faixa de luz visível. Em contraste com as propriedades de baixa absorção, o efeito de espalhamento de todas as formulações foi alto, porém para F2 esses valores são ainda maiores. Os valores de μ_s' diminuíram de 40 para 20mm^{-1} na região de luz visível para a formulação F2, sendo mais altos na região de comprimento da luz violeta-azul (Figure 24).

Figura 24: Coeficiente de espalhamento efetivo μ_s' para F1 e F2 na região VIS/NIR de 400 nm a 800 nm (média \pm SEM). Adaptado de Infante et al. 2021c



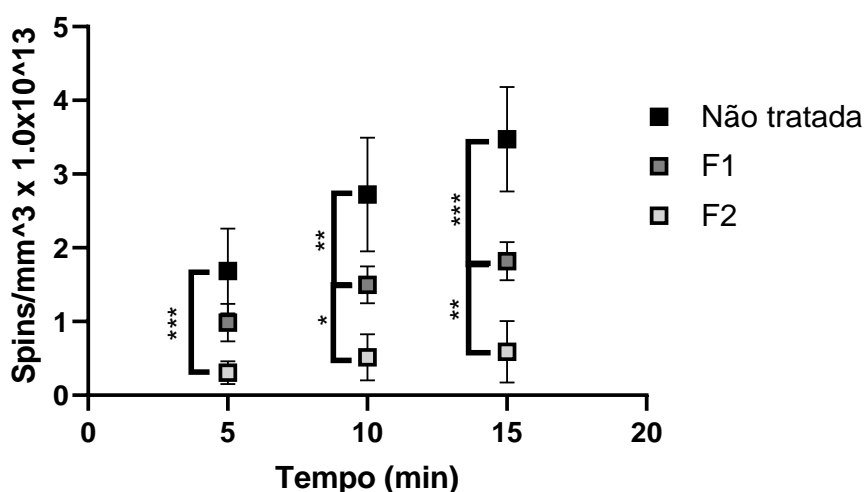
A proteção dos radicais livres foi analisada em modelo *ex vivo* de orelha de porco para as formulações F1 e F2. A formação de radicais após a irradiação com luz visível é mostrada na figura 20. Os resultados são comparados aos obtidos com a pele sem aplicação de proteção solar. Ambas as formulações, F1 e F2, apresentaram proteção de formação de radicais livres para a irradiação com luz visível, com menor produção de radicais se comparada à pele não tratada ($p < 0,001$) após 15 minutos. Porém, a proteção foi mais acentuada para a formulação F2, apresentando uma diferença significativa na proteção se comparada com F1 ($p < 0,001$) na produção cumulativa de radicais (Figura 25).

Figura 25: Produção cumulativa de radicais para as formulações F1, F2 e pele não tratada após 15 minutos de exposição à luz visível (Média \pm SD). Adaptado de Infante et al. 2021c



Foi possível observar que após 5 minutos de irradiação apenas F2 apresentou diferença significativa se comparada à pele não tratada na formação do radical ($p < 0,001$). Após 10 e 15 minutos esta diferença entre F2 e pele não tratada continuou muito significativa, evidenciando a boa proteção contra a formação de radicais desta formulação. Para F1 foi possível observar diferença com a pele não tratada após 10 minutos, porém a diferença entre F1 e F2 já era perceptível. No tempo quinze minutos, ambas as formulações apresentaram uma boa diferença se comparadas com a pele não tratada, porém F1 e F2 apresentaram diferença na proteção, sendo F2 mais eficaz (Figura 26).

Figura 26: Formação de radical conforme o tempo para F1, F2, pele não tratada nos tempos de 5, 10 e 15 minutos. As diferenças entre cada amostra em cada tempo, em que * significa um valor de p entre 0,05 e 0,01; (**) significa um valor de p entre 0,01 e 0,001 e (***) significa um valor de p inferior a 0,001. Adaptado de Infante et al. 2021c



7.2.6. Desenvolvimento de formulações cosméticas com óleos essenciais

O desenvolvimento da formulação cosmética seguiu os critérios estabelecidos pelos participantes do estudo com questionário. A formulação deveria ser adequada para a pele oleosa e acneica, com toque seco e, se possível, com maioria dos ingredientes de origem natural. A utilização de óleos essenciais em formulações semi-sólidas reduz consideravelmente a viscosidade, como observado no desenvolvimento do fotoprotetor. Para o desenvolvimento das formulações com óleos essenciais utilizamos além da base de amidos, um copolímero e também um óleo fixo para auxiliar na estabilização do sistema. Para analisar a influência das novas matérias-primas (óleo de Argan e carragenina) nas características físico mecânicas da formulação foi desenvolvido outro planejamento experimental fatorial. Para isso foram

desenvolvidas 27 fórmulas variando as concentrações do emoliente, do copolímero e a velocidade de agitação para analisar influências no processo e as características físico-mecânicas como a viscosidade foram utilizadas como resposta (Tabela 17).

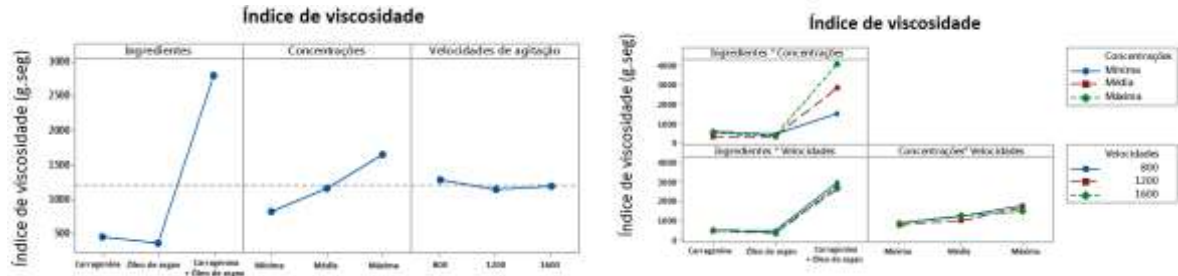
Tabela 17 – Variáveis da equação de correlação para o design estatístico 3³ para a formulação do estudo clínico

X - Ingredientes	Y - Concentrações	Z - rpm
X1 – Carragena	Mínima (0%)	Z1 - 800
X2 – Óleo de Argan	(0,5% carragena/1% Óleo Argan)	Z2 - 1200
X3 - Associação	(1% carragena/2% Óleo Argan)	Z3 - 1600

Em relação ao planejamento fatorial, constatamos que a velocidade de agitação não influenciou muito nos parâmetros físico-mecânicos, sendo 800 rpm o mais interessante para efeito de aumento de viscosidade. O aumento da concentração dos ingredientes influencia linearmente nos parâmetros de viscosidade, algo compreensível. No entanto, a combinação de carragena e óleo de argan apresentou comportamento sinérgico para firmeza, principalmente em altas concentrações (Figura 27). É importante para o nosso desenvolvimento uma emulsão cosmética com altos valores de viscosidade, que pudesse receber os óleos essenciais, e a redução de suas características físico-mecânicas não comprometessem a estabilidade.

A formulação com maior concentração de óleo de Argan e carragena iota e menor velocidade de agitação (800 rpm) foi selecionada para ser o veículo do estudo. O veículo apresentou pH $5,1 \pm 0,3$ sem variações significativas durante 90 dias. Não houve variação na cor ou separação de fases.

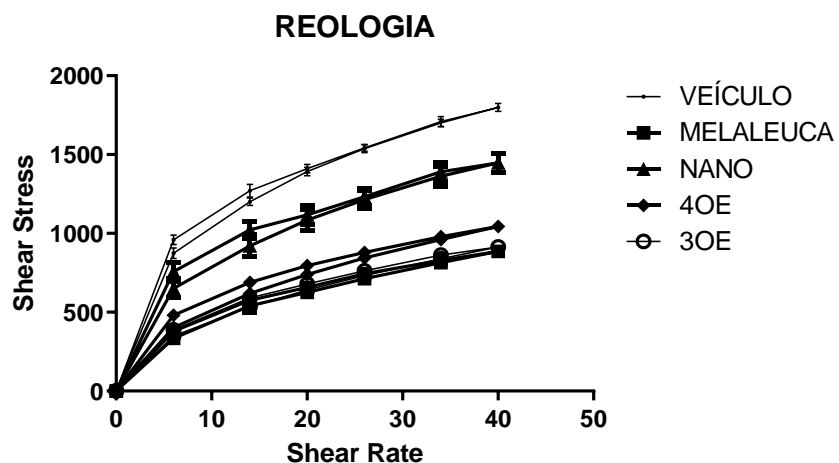
Figura 27: Respostas do planejamento fatorial 3^3 para o parâmetro de índice de viscosidade da formulação veículo desenvolvida para o estudo clínico. A imagem à esquerda analisa as influências de cada uma das variáveis isoladamente e na segunda a influência da combinação



Na figura 27 podemos observar que as formulações apresentam um caráter tixotrópico, pseudoplástico e com uma pequena área de histerese. São características interessantes do ponto de vista cosmético, uma vez que auxiliam para uma melhor espalhabilidade e, por consequente, melhor sensorial.

É possível notar que o veículo apresenta a maior viscosidade e a adição dos ativos cosméticos, após 24 horas, não alteram muito a forma da curva reológica da formulação, exceto a viscosidade mínima aparente, ponto mais alto da curva. A adição de melaleuca e dos 3 óleos essenciais em sinergia comprometeram mais a reologia do que os quatro óleos e especialmene com relação à nanoemulsão (Figura 28). Interessante ressaltar que a nanomelaleuca alterou a área de histerese mais do que os outros ativos e ocasionou a menor perda de viscosidade.

Figura 28: Reogramas das formulações em estudo após 24 horas de sua preparação



7.3. DISCUSSÃO

Apesar dos resultados indicarem uma preferência pela utilização de produtos de higiene pelo consumidor masculino de cosméticos, o estudo teve como proposta desenvolver produtos de cuidados com a pele para analisar como seria a inclusão de um novo hábito a esses participantes, bem como avaliar os possíveis efeitos de eficácia com relação a determinados óleos essenciais. A incorporação de formulações fotoprotetoras foi de extrema importância, visto o panorama de fotoenvelhecimento precoce e mesmo de eritema causado pela exposição solar sem o uso de fotoprotetor.

O desenvolvimento das formulações seguiu uma forma lógica de ser o mais simples, de “origem natural”, dando preferência a ingredientes que venham de cadeias produtivas mais sustentáveis.

O primeiro passo para o desenvolvimento de formulações cosméticas, após conhecermos o perfil do público masculino jovem, foi o desenvolvimento de uma base cosmética utilizando amidos. A escolha dos amidos foi importante porque eles podem ser modificadores reológicos (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2020). Dessa forma, ao desenvolvermos uma base única, seria possível trabalhar com a mesma corrida reológica para a maioria das formulações, o que facilitaria a comparação entre as diferenças formulações. Além disso, formulações com amido podem apresentar partículas que auxiliam na estabilização de sistemas semissólidos, reduzindo a quantidade de emulsionante.

Além das medidas físico-químicas foram obtidas as curvas reológicas de cada uma das formulações. Essas características estão intimamente relacionadas com a estabilidade e o sensorial das formulações (CALIXTO, INFANTE & MAIA CAMPOS, 2018), desta forma, a reologia pode ser uma boa forma de escolhermos formulações mais adequadas para os objetivos propostos.

Visualmente, foi possível observar que o amido de milho apresenta uma contribuição muito expressiva para que a formulação tenha mais consistência do que aquelas com amido de tapioca (Figura 9). Essa característica pode estar relacionada à natureza dos polímeros utilizados neste estudo, além do indicativo de fase lamelar observado para a formulação de amidos.

O amido pode construir redes de polímeros sob a ação da água e calor. Primeiro, os grânulos de amido absorvem água e aumentam o volume. Então, com o excesso de água, o grânulo estoura e com o calor o processo de gelatinização ocorre, formando uma rede

polimérica que pode estabilizar as gotas de água (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2020). A presença de glicerina ajuda a fortalecer essas redes por meio da ação plastificante. Ainda, o amido de milho parece interferir muito mais na área de histerese do que a tapioca.

O amido de milho difere do amido de tapioca em termos de tamanho dos grânulos e não é previamente inchado, enquanto que o amido de tapioca, derivado da mandioca, sofre hidratação prévia. Neste processo, o grânulo de amido estoura e a gelatinização pode ser otimizada. Quando esses amidos foram combinados, uma interação sinérgica foi observada, com o amido de tapioca construindo a rede polimérica mais cedo que o amido de milho (Figura 8). Desta forma, a tapioca constrói a rede de polímeros e o amido de milho, com o grânulo hidratado, ajuda a melhorar a viscosidade da formulação, que seria muito baixa sem a utilização do amido de milho.

Primeiramente estudamos formulações compostas com cada um dos amidos de forma isolada. Foi possível notar que as melhores curvas reológicas foram das formulações C, F e I, apresentando comportamentos tixotrópico e pseudoplástico, desejável para produtos cosméticos, porém a melhor curva foi a da formulação I, com viscosidade intermediária entre as formulações C e F.

Em publicação correspondente a este estudo (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2020), nós observamos que a formulação contendo apenas amido de tapioca (10%) mostra uma estrutura com menos grânulos do que a formulação contendo apenas amido de milho (10%). Em contraste, a formulação com ambos os tipos de amido, mostrou mais grânulos do que a formulação com apenas amido de tapioca, mas menos grânulos do que a formulação com apenas amido de milho. Assim, embora ambos os materiais sejam amidos, sua natureza diferente ajudou a melhorar a qualidade da formulação final.

Além disso, a formulação I, com ambos os amidos, mostrou-se estável durante os três meses de estudo. Apesar da perda de viscosidade, as formulações mostraram-se estáveis após 3 meses, mesmo em estresse térmico de 37°C e 45°C. Entretanto precisamos entender se essas são, de fato, as melhores concentrações para o desenvolvimento e por isso o desenvolvimento fatorial foi muito importante.

Esse sistema coloidal pareceu ser uma alternativa para o desenvolvimento de uma base multifuncional e que pudesse ser adicionada a diferentes formulações cosméticas. Entretanto, era preciso saber se estávamos encontrando a melhor resposta, mesmo porque alterações na

concentração de glicerina pode alterar a formação de ligações *cross-link* entre os polímeros como os amidos, devido à sua função plastificante.

Dessa forma, variações em concentrações desses componentes (amido de milho, amido de tapioca e glicerina) podem alterar as características físico-mecânicas da formulação. Esse ensaio foi importante porque as respostas obtidas no estudo de espalhabilidade podem ser uma boa alternativa para entender como podemos selecionar as melhores concentrações da formulação. O design de experimentos é uma estratégia estatística que permite aperfeiçoar processos experimentais e racionalizar a tomada de decisão. Permite o estudo simultâneo dos efeitos de diferentes variáveis em uma resposta (FERREIRA et al., 2020).

Foi possível observar uma linearidade entre os resultados de baixa e média concentração de polissacarídeos, mas um efeito sinérgico quando ambas estão no total de 10%. Os resultados para glicerina mostraram que há diferença entre utilizar 3 ou 6%, mas não 9%. Dessa forma, a formulação 26, com 5% de cada amida e 6% de glicerina apresentou um resultado de aumento do trabalho de cisalhamento significativo. A ideia nesse estudo seria utilizar a base com a melhor respostas como modificador reológico, tendo em vista que em concentrações menores, os amidos não estavam sendo efetivos para isso, especialmente o amido de tapioca.

Conseguimos observar que utilização do design fatorial auxiliou para a obtenção de uma base cosmética estável e com características físico-mecânicas adequadas, entretanto, uma comparação com polímeros comerciais foi importante para que possamos entender se o desenvolvimento nos trouxe uma resposta realmente positiva. Por esse motivo foi realizada a comparação com a hidroxietilcelulose, um polímero de origem natural, e o *Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer*, de origem sintética.

Podemos observar que o sensorial mais agradável foi da formulação de amidos e do outro polímero sintético. A HEC, muito utilizada em cosméticos, apresentou o sensorial menos agradável aos participantes. Dessa forma, o apelo sensorial da base desenvolvida foi superior ao de um polímero de origem natural já utilizado normalmente pela indústria e comparável ao de uma base de origem sintética.

Com relação às características físico-mecânicas podemos observar que os amidos foram comparáveis ao AAVP-C em relação aos parâmetros coesividade e index de viscosidade e superiores à HEC em todos os parâmetros.

Gilbert et al. (2012) mostraram em seu estudo que diferentes polímeros em formulações cosméticas do tipo emulsão podem contribuir de diferentes formas nas características físico-

mecânicas das formulações. Polímeros de origem sintética costumam trazer firmeza ou consistência de forma mais efetiva aos cosméticos por conta das ligações *cross-link*, enquanto as formulações com polímeros de origem natural como a hidroxietilcelulose não interferem tanto nesse aspecto. Isso foi observado em formulações apenas do tipo gel em estudo sobre textura de formulações poliméricas em outro estudo (INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2019).

Os nossos resultados mostram que, apesar de apresentar firmeza e consistência inferiores ao compararmos com o AAVP-C, a formulação de amidos desenvolvida é superior à HEC e, muitas vezes, comparável ao polímero de origem sintética, evidenciando que o desenvolvimento fatorial auxiliou para que a formulação com melhores características fosse desenvolvida, sendo superior à um polímero já utilizado pela indústria cosmética, com melhor sensorial e características físico-mecânicas. Por esse motivo, a utilização da base foi importante para o desenvolvimento de todas as outras formulações cosméticas desse estudo. A adição de óleo essencial diretamente nessa base não demonstrou resultados satisfatórios, precisando ser aplicada de outra forma.

Os óleos essenciais reduzem parâmetros como firmeza e viscosidade das formulações cosméticas. Para uma formulação apenas composta de amidos, com fase polimérica e partículas dispersas, não é suficiente para que, ao adicionar óleo essencial, ela mantenha-se estável. Dessa forma, seria necessário utilizar compostos lipofílicos, como óleos fixos, bem como emulsionantes para a formulação, mesmo que em baixa concentração. Dessa forma, a formulação não sofreria tanto o comprometimento das características físico-mecânicas e, de fato, observamos isso no estudo fatorial para o desenvolvimento das formulações utilizadas no estudo clínico.

Entretanto, primeiro discutiremos a aplicação dessa base para o desenvolvimento da formulação formadora de filme, haja visto que nos trouxe muitos subsídios das características físico-mecânicas com a performance do produto. Esse desenvolvimento foi aplicado para o protetor solar, porque é importante que a cobertura da superfície da pele seja homogênea. Dessa forma, o desenvolvimento de uma formulação com característica de formação de filme seria interessante. Partimos da base de amidos desenvolvida anteriormente e adicionamos PEG-75 lanolina, um emoliente etoxilado.

No perfil reológico das formulações foi observado um comportamento tixotrópico com baixa área de histerese. O estudo dos parâmetros reológicos é importante porque pode ser correlacionado com a capacidade de formação de filme e, o desempenho da formulação na

superfície da pele (FERREIRA et al., 2020; INFANTE et al., 2021). Para isso, a presença de uma área de baixa histerese no reograma contínua durante o tempo é fundamental para prever a capacidade filmogênica da formulação cosmética e também pode ser correlacionada com os resultados obtidos na análise clínica e com a avaliação sensorial, uma vez que a formação de filme pode influenciar na percepção de eficácia. Vale ressaltar que essa não é a única característica necessária para saber se a formulação tem melhor formação de filme, mas serve de guia importante nesta avaliação.

O comportamento reológico pode não apenas estar relacionado com a capacidade de formação de filmes, mas também com as propriedades sensoriais das formulações cosméticas (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017; CALIXTO, INFANTE & MAIA CAMPOS, 2018). Quando uma formulação cosmética apresenta alta viscosidade, pode ser difícil de se espalhar na pele e, dessa forma, afetar a percepção sensorial da formulação. Se o sensorial não for agradável, a aderência ao uso das formulações é difícil e conseqüentemente, prejudica sua eficácia. Além disso, uma formulação com um sensorial desagradável pode ser difícil de se espalhar na pele, afetando a formação do filme na superfície da pele. Em se tratando de um público que não está acostumado ao uso de cosméticos, como o masculino, o sensorial precisa ser muito bem pensado.

Na avaliação da eficácia, o TEWL foi significativamente reduzido ($p < 0,001$) após a aplicação da formulação quando comparado com a área controle. Além disso, é possível observar que a região controle teve um aumento não significativo após 30 minutos, mas o uso da formulação apresentou queda significativa na TEWL após 30 minutos. Esse efeito nos parâmetros da TEWL já são descritos na literatura em produtos com a proposta de “segunda pele”, que significa capacidade de formação de filme (DE MELO & MAIA CAMPOS, 2019). O filme formado não permite que a água superficial evapore, promovendo uma melhora na função de barreira da pele e uma proteção contra danos externos.

O teor de água do estrato córneo não apresentou alterações significativas após 30 minutos ou em comparação com a área controle, mas a área controle apresentou redução no teor de água após 30 minutos. De Melo & Maia Campos (2019) observaram comportamento semelhante em seu estudo, com redução da TEWL nas regiões com aplicação de formulação cosmética, mas sem alteração no teor de água do estrato córneo.

As análises das imagens de pele obtidas com o microscópio confocal mostraram aumento do brilho e diminuição da distância dos sulcos do estrato córneo com diferenças

significativas quando comparadas com a região controle. Foi possível observar a deposição da formulação nos sulcos do estrato córneo (Figura 16).

Ambas as características representam uma melhora na condição da barreira cutânea, o que corrobora com o resultado obtido na avaliação da TEWL cutânea. Além disso, o aumento no brilho pode ser correlacionado com a melhora do micro relevo da pele. Uma pele com microrrelevo mais homogêneo recebe a luz do laser e a reflete de forma menos difusa, ou seja, um reflexo mais ordenado. Esse resultado é importante para destacar uma possível aplicação como primer em produtos de maquiagem ou uma formulação cosmética de “segunda pele”, além dos efeitos antipoluição. A redução da distância do sulco é importante para melhorar o micro relevo e a relação entre a superfície da pele e a reflexão da luz.

As análises de MCR mostraram, neste estudo, uma deposição da formulação cosmética na superfície da pele, ajudando a entender como ela atua na melhora da função de barreira cutânea. Provavelmente a força adesiva correlacionada com a estrutura polimérica da formulação reduziu os sulcos da pele e cobriu a pele, diminuindo a TEWL. No entanto, o nível de hidratação não foi afetado, reforçando a teoria da deposição de polímero na superfície da pele. Não há na literatura estudos que mostrem, de forma clara como nossas imagens, a deposição cosmética na superfície da pele com o uso da MCR.

A medida do Corneometer[®] é correlacionada com a água o conteúdo do estrato córneo, desta forma esta técnica permite entender os níveis de hidratação superficial da pele. Em teoria, se uma formulação cosmética com a finalidade de “segunda pele” for aplicada na superfície da pele, a redução na TEWL pode resultar em um aumento do teor de água na superfície da pele. Como o teor de água do estrato córneo não se alterou, também é importante avaliar a hidratação da pele em uma camada mais profunda da epiderme por meio do MCR (DE MELO & MAIA CAMPOS, 2019).

Normalmente, a água presente nos produtos cosméticos hidrata imediatamente o estrato córneo com um efeito de curta duração, enquanto os ingredientes ativos, como umectantes, na formulação retêm moléculas de água no estrato córneo e, muitas vezes na epiderme, atingindo um efeito mais longo. Dessa forma, a capacitância no estrato córneo aumentaria após a utilização do hidratante, pois a água ficará retida nessa camada. Quando um cosmético com capacidade filmógena é aplicado na pele, as redes construídas na superfície cutânea irão reduzir a TEWL e, se a formulação não contiver agentes umectantes, a hidratação a longo prazo não será observada. Dessa forma, a capacitância não aumentará, porém, o acúmulo de água na epiderme, leva a possíveis alterações na biologia dos queratinócitos. Isso é perceptível ao

analisarmos o aumento do espaço extracelular dos queratinócitos, provavelmente influenciando a composição do espaço interqueratinócito e aumentando o volume celular.

Em relação ao desenvolvimento e avaliação da eficácia das formulações fotoprotetora, inicialmente foi desenvolvida a formulação F1 fotoprotetora para analisar a possibilidade de estabilização de filtros químicos com baixa concentração de emulsionante e os amidos, sem a necessidade de acrescentar óleos para estabilizar os filtros, uma vez que isso pode refletir no sensorial não desejado pelos participantes. Por isso foram selecionados os filtros em questão: o octyl-metoxicinamato apresenta características emolientes além de ser filtro UV e auxilia na estabilização do filtro BEET. Utilizando da mesma composição de F1, foi desenvolvida a formulação F2 apenas com PEG-75 lanolina acrescida. A etapa clínica precisava de um protetor solar por razões éticas.

Com relação às diferenças entre F1 e F2 e sua eficácia, o estudo combinou diferentes técnicas para entender os parâmetros físico-mecânicos de formulações de protetor solar, seu comportamento de dispersão na superfície da pele e, conseqüentemente, a melhoria na sua eficácia utilizando diferentes técnicas biofísicas não invasivas.

Apesar dos bons resultados para as propriedades visuais e organolépticas da formulação F1, no comportamento reológico, foi detectada uma possível instabilidade na microestrutura da formulação que era imperceptível para a análise visual. Essa mudança no comportamento físico-mecânico pode sugerir um ganho de viscosidade na formulação, refletido no comportamento reológico e conseqüentemente no FPS da formulação. Essa instabilidade era superada por algum tempo se a formulação fosse previamente agitada.

A análise do comportamento reológico é importante para as formulações fotoprotetoras, pois permite prever certos aspectos como a deposição mais homogênea na superfície da pele (SOHN et al. 2016). Em formulações com área de histerese baixa, o tempo para recuperar a estrutura semissólida é menor do que para as formulações com área de histerese alta. Isso é importante, pois pode melhorar a deposição dos filtros UV na superfície da pele em uma distribuição mais homogênea. Idealmente, os valores de tixotropia não devem variar muito, em nenhuma direção, durante os testes de estabilidade (GASPAR e CAMPOS 2003). Além disso, a distribuição dos filtros UV uniformemente na superfície da pele levou a um valor de FPS mais alto (LADEMANN et al. 2004). Dessa forma, a eficácia de uma formulação de filtro solar está correlacionada não apenas com a quantidade de filtros UV, mas também com o comportamento da formulação quando estressado e sua capacidade de reestruturação na superfície da pele.

A proteção ideal da pele por uma formulação fotoprotetora só é possível quando ela é responsável por cobrir quase toda a área da pele a ser protegida, porém isso é praticamente impossível devido à irregularidade da superfície da pele, às propriedades da formulação e, conseqüentemente, ao comportamento de distribuição. Por outro lado, uma melhor cobertura da pele pode ser útil para melhorar a eficácia do fotoprotetor. Valores baixos e constantes de tixotropia são indicativos para esse comportamento da formulação na superfície da pele. Assim, as formulações ideais seriam aquelas com baixa tixotropia, ou seja, menor área de histerese, que precisa se manter constante, conforme demonstrado em estudos anteriores (GASPAR e CAMPOS 2003). Esse comportamento foi observado para a formulação F2.

F1 apresentou aumento da viscosidade após 28 dias, e a reologia excedeu o valor de torque apresentando provável instabilidade da formulação como coalescência que significa agregação de partículas. Isso possivelmente aconteceu devido à falta de emolientes para a correta dispersão dos filtros e demais ingredientes, prejudicando a estabilidade e levando a uma agregação de partículas. Para entender melhor a estrutura da formulação, imagens de microscopia TPT-FLIM em uma superfície de vidro foram obtidas e um padrão diferente foi observado para cada formulação, o mesmo foi observado nas imagens de MCR (Figuras 18 e 19). F2 apresentou melhor distribuição, provavelmente proporcionando à pele uma dispersão mais homogênea dos filtros UV. Para F1 observamos uma cobertura mais espaçada, o que pode não ter otimizado a formulação como F2.

A composição da emulsão pode influenciar na deposição do filme na superfície da pele (FAUCHEUX et al. 2020). Assim, como o filme não se forma na pele, o valor do FPS do fotoprotetor não pode ser otimizado, o que pode ser associado a análises *in vitro* e *in vivo*. Em outro estudo (CALIXTO, INFANTE e CAMPOS 2018), foi possível observar a correlação entre esses parâmetros em uma matriz de correlação de *Spearman*, com altos impactos das propriedades físico-mecânicas no sensorial e na estabilidade. No presente estudo esses parâmetros foram analisados e são complementares entre si com valores significativamente maiores para F1, ou seja, essa formulação é mais difícil de se espalhar, firme e, conseqüentemente, formar o filme homogêneo na superfície da pele. Porém, os filtros UV foram bem incorporados e estabilizados, resultando no FPS 30 *in vivo*. Por outro lado, com melhores resultados e características físico-mecânicas mais reprodutíveis, como para F2, o desempenho pode ser melhorado conforme observado nas imagens de TPE-FLIM.

PEG-75 Lanolina, junto das estruturas de amido e do emulsificante utilizado são capazes de construir uma rede muito mais homogênea e, por conta da baixa área de histerese, conseguem se reagrupar rapidamente, formando a rede homogênea observada nas figuras 18 e 19.

A adição de um emoliente etoxilado (PEG-75 lanolina) foi eficaz para resolver alguns problemas físico-mecânicos, mas era necessário saber se seria eficaz para atingir o FPS *in vivo* desejado. O FPS *in vitro* pode não ser totalmente confiável, uma vez que a elevada quantidade de compostos em uma formulação pode afetar a Lei de Beer-Lambert em espectroscopia de UV visível, o que significa que pode prever um FPS maior do que o valor real (LIM et al. 2001) . No entanto, a técnica é válida para determinar o comprimento de onda crítico, bem como a razão do filtro UVA/UVB (COUTEAU et al. 2011) e ambos apresentaram relação de 1/3 da proteção UVA em relação ao UVB. Em nosso estudo encontramos valores elevados de FPS para ambas as formulações nos estudos *in vitro*, porém mais reprodutíveis para F2, provavelmente devido à melhor estabilidade.

Para a ação desejada do filtro, é preciso considerar também a quantidade que será aplicada pelo usuário. Na maioria das vezes, a quantidade de protetor solar utilizada pelos consumidores não é a mesma utilizada para os testes de validação (COUTEAU, DIARRA & COIFFARD 2016; PORTILHO & LEONARDI 2020). Isso está intimamente relacionado ao estudo das características físico-mecânicas de uma formulação, pois pode ajudar a prever o comportamento sensorial (CALIXTO, INFANTE & MAIA CAMPOS 2018; GILBERT et al. 2013). Formulações que proporcionam uma sensação agradável serão mais bem aceitas pelo consumidor, que usará mais formulação, resultando em uma maior eficiência da proteção solar. Os participantes que estão acostumados com a utilização de fotoprotetor, de fato, mostraram que uma das preocupações para a continuidade no uso de um protetor solar é o sensorial.

Para entender melhor o comportamento das formulações F1 e F2 na superfície da pele, analisamos a perfilometria da superfície da pele em orelhas de porco, um bom modelo *ex vivo* para estudos de pele (JACOBI et al. 2007). A redução nos valores da superfície da rugosidade da pele está correlacionada com as propriedades de formação de filme (KATHE e KATHPALIA 2017). Observamos redução da rugosidade superficial para o estudo de perfilometria e valores menores e menos variáveis para o estudo de transmitância usando espectroscopia de refletância difusa para F2.

Nossos resultados mostraram que o fator de proteção solar está mais do que apenas correlacionado com a quantidade de filtros UV; é altamente dependente do melhor desempenho da formulação na pele. Uma melhor distribuição superficial da formulação, pode levar a uma

melhor cobertura da pele, melhorando o FPS. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de protetor solar, pois podem reduzir a quantidade de filtros UV na formulação final.

Esses resultados são embasados pelo estudo que mede a transmitância da radiação UV na pele *ex vivo* usando espectroscopia de refletância difusa. Observamos que F1 apresentou valores mais elevados e até mesmo um desvio padrão maior. Na verdade, com uma distribuição superficial menos eficaz, a variação padrão para a transmitância pode ser maior, uma vez que a superfície da pele não é bem coberta. Esses dados corroboram com os apresentados para a formulação formadora de filme, mostrando que o desenvolvimento de produtos cosméticos mais eficazes precisa ser pensado desde o ponto mais inicial da escolha de matérias-primas.

Outro ponto importante de ser discutido é relativo à penetração através do estrato córneo de substâncias cosméticas. Ambas as formulações, F1 e F2, são restritas à superfície e não penetram na epiderme viável, o que é importante para evitar o transporte dos filtros UV para a circulação. A absorvância de 310 nm é o ponto mais alto para ambas as formulações e, após a quinta fita, mais de 80% dos filtros UV iniciais foram medidos. A quinta fita representa menos de 20% da espessura do estrato córneo na pele de suínos, evidenciando que ambas as formulações de protetor solar podem permanecer na superfície cutânea, mas a homogeneidade da dispersão é fundamental para aumentar a eficácia do fotoprotetor. Além disso, como a pele humana *in vivo* é caracterizada por uma função de barreira cutânea superior à pele da orelha suína *ex vivo* (CHOE et al. 2018), espera-se que em condições reais de uso, as formulações F1 e F2 apresentem uma penetração inferior através do estrato córneo. Assim, sua segurança deve ser ainda maior.

Esses dados capturados por meio de técnicas de imagem da pele são importantes, pois corroboram os resultados observados para a caracterização física-mecânica das formulações fotoprotetoras. A homogeneidade na distribuição dos filtros UV na superfície da pele é um processo essencial na pesquisa e desenvolvimento dessas formulações, podendo aumentar o FPS sem alterar a quantidade de filtros UV. A formulação F1 é capaz de dispersar e estabilizar os filtros UV na superfície da pele, pois seu FPS é o que esperávamos antes dos testes *in vivo*, enquanto as propriedades físicas-mecânicas do F2 aumentaram a eficácia do filtro solar. Suas melhores propriedades, impulsionadas pela formação de filme, foram confirmadas pelas técnicas de imagem. Este aumento foi determinado em cerca de 49% comparando os valores médios de FPS entre F1 e F2.

Como o estudo que será apresentado no capítulo IV, de caracterização da pele, mostrou um processo de fotoenvelhecimento e provável aumento de radicais livres na pele dos participantes, o estudo da proteção de luz visível se fez necessário, haja visto que essa radiação solar é responsável por um aumento na produção de radicais livres na pele (MEINKE et al., 2011). O primeiro aspecto importante é entender as propriedades ópticas das formulações fotoprotetoras, bem como o potencial antioxidante.

De fato, observamos diferenças de acordo com as formulações quando analisamos as propriedades ópticas no espectro da luz visível, estando F1 com um valor de transmitância muito maior do que o observado para F2. Isso indica que ela provavelmente tem uma distribuição mais “espaçada” do que as demais na superfície da pele.

As formulações desenvolvidas no presente estudo não apresentaram filtro UV do tipo inorgânico como óxido de zinco ou dióxido de titânio em suas composições. F1 e F2 também não apresentam um antioxidante adicional em sua formulação e não absorvem no espectro da luz visível – apresentam um μ_a muito baixo. Entretanto apresentaram boas propriedades ópticas como alto coeficiente de espalhamento efetivo (μ_s') e reflectância, além da atividade antioxidante.

Um dos filtros UV é o Metileno Bis-Benzotriazolil Tetrametilbutilfenol (MBBT) com base na tecnologia de partículas orgânicas micro finas (SOUZA & CAMPOS, 2017). Esses filtros UV, em partículas micro finas, podem ser responsáveis pelo coeficiente de espalhamento efetivo (μ_s') observado mesmo em F1, com pior performance nos testes *ex vivo* de proteção contra a produção de radicais livres.

O alto FPRL observado para ambos os filtros solares pode ser correlacionado com os filtros de UV utilizados no estudo, uma vez que a presença de metoxicinamato de octila (OMC) pode aumentar o potencial antioxidante (KUMAR et al. 2014). OMC, também conhecido como etilhexil metoxicinamato (EHMC), é um filtro UV orgânico, freqüentemente usado em todo o mundo em mais de 90% dos filtros solares disponíveis comercialmente e formulações cosméticas que são aplicadas topicamente (NATARAJ et al. 2020). Kumar e colaboradores (2014) observaram em seu trabalho que este filtro UV é capaz de apresentar uma alta atividade sequestradora de radicais livres utilizando o ensaio DPPH. Souza et al. (2017) utilizaram em seu estudo com formulações de filtro solar, os filtros UV MBBT e BEMT em concentrações semelhantes às utilizadas no estudo apresentado. Porém, o FPRL foi inferior (32×10^{14} radicais/mg) quando comparado com os resultados de F1 e F2. Além disso, os autores utilizaram os mesmos conservantes/antioxidantes na mesma concentração que utilizamos. A diferença

para Souza et al. foi a utilização de OMC/EHMC como filtro UV em 6%. Esse composto pode ser responsável pelo aumento do FPRL, uma vez que a presença do grupo p-metoxicinâmico na molécula pode estar correlacionada com a eliminação de radicais livres. Na presente formulação, este é o único filtro UV com possível impacto negativo no ambiente de barreira de coral (NATARAJ et al. 2020), porém, a utilização é reduzida devido às ações de outros filtros UV e à estrutura da formulação.

Por outro lado, as formulações apresentam amidos como fase polimérica. O amido de tapioca é mais disperso que o de milho que apresenta alta concentração de partículas na formulação. A utilização dessa tecnologia está relacionada às emulsões do tipo pickering, que podem ser estabilizadas com nenhuma ou menor utilização de emulsionante (ZHU, 2019). Alguns filtros inorgânicos UV como o dióxido de titânio e o óxido de zinco podem ser utilizados para a estabilização desse tipo de emulsão (HOLDICH et al., 2012), porém a utilização de partículas em excesso pode ser indesejável para a estabilidade e sensorial das formulações.

Outros autores já descreveram a utilização de amidos como potenciadores de FPS, principalmente quando combinados com filtros inorgânicos, nesse estudo não observamos isso para F1, mas a melhor dispersão do fotoprotetor na superfície da pele pelo F2 mostra que há influências (SERPONE et al., 2007; MARTO et al., 2016). A utilização de lanolina polietoxilada não apenas melhorou o comportamento filmógeno como também aumentou o fator de proteção de radicais livres (comparando F1 com F2). Essa melhora pode estar relacionada com a melhor ação plastificante da PEG encontrada nessa matéria-prima quando em contato com os amidos. De fato, a lanolina utilizada nesse estudo apresenta atividade antioxidante já mostrada na literatura (INFANTE et al., 2021).

A melhor cobertura também afetou a atividade contra a luz visível, melhorando o processo de espalhamento do produto e, conseqüentemente, a refletância. F2 apresenta uma refletância mais alta indicada por um coeficiente de espalhamento efetivo mais alto. As partículas em formulações de fotoprotetores podem ampliar a via ótica dos fótons da radiação solar na superfície da pele, efeito intimamente relacionado à hiperqueratose solar, uma vez que o estrato córneo mais espesso pode levar a um espalhamento de luz (PHILLIPS et al, 2000). Interessante que observamos esse efeito – de espessamento do estrato córneo - no grupo que não usa fotoprotetores.

O alargamento das vias óticas dos fótons pode aumentar a eficácia das moléculas antioxidantes nos filtros solares, que são capazes de neutralizar esses fótons ou aumentar a refletância difusa. Isso está relacionado com os resultados, uma vez que F2 apresenta uma

cobertura melhor, a via dos fótons é aumentada e a eficácia do filtro solar é melhorada, frente à F1.

A formulação F2 apresenta não apenas um FPRL mais alto se comparado com F1, mas uma grande proteção contra a luz visível, conforme observado no estudo *ex vivo*. O FPRL para F1 é alto - provavelmente por causa dos filtros UV - mas a presença de PEG-75 lanolina ($C_{2n}H_{4n} + 2O_n + 1$), uma molécula polimérica que pode ser utilizada como modificador reológico e emulsificante em formulações cosméticas, aumentou o poder de proteção da F2 (JANG et al, 2015).

A lanolina consiste em vários compostos, incluindo ésteres, colesteróis e poliésteres de álcoois de cadeia longa e ácidos graxos, com predominância de ácidos insaturados, representados por uma alta proporção de ácidos linoléico e docosahexaenóico (PEI et al, 2019). O PEG-75 Lanolina apresenta em sua estrutura um condensado de lanolina etoxilado com comprimento médio de cadeia de 75 unidades de óxido de etileno por mol, conferindo melhor propriedade emulsificante para a formulação F2. Essa informação é importante para este estudo, pois mostra a presença de propriedades antioxidantes para este ingrediente (JANG et al, 2015; INFANTE et al., 2021).

Outro resultado interessante diz respeito à melhor eficácia no espalhamento - e conseqüentemente reflexão difusa - na faixa de luz azul-violeta (380-495 nm) para F2. É possível observar que o espalhamento para F2 diminui na faixa de luz visível. A luz azul-violeta (380–495 nm) é amplamente usada na medicina para o tratamento de várias doenças de pele, como acne, psoríase e dermatite atópica (KLEINPENNING et al, 2010). No entanto, a luz azul em altas doses e longos períodos - como a exposição direta ao sol - pode suprimir a ativação das células dendríticas, afetar os fibroblastos dérmicos, aumentar a melanogênese transitória e reduzir os níveis cutâneos de betacaroteno (KLEINPENNING et al, 2010).

Além do desenvolvimento das formulações acima mencionadas, foi realizada a pesquisa e desenvolvimento de formulação com óleos essenciais para o público masculino, baseando-se na formulação de amidos, bem como a utilização de um copolímero e um óleo fixo.

É interessante observar que os homens buscam cosméticos com toque seco, de rápida absorção, eficácia clínica comprovada e proteção solar. Os ingredientes naturais na formulação podem ser um diferencial. Aqui é importante destacar que o termo “cosméticos naturais” pode ser confundido como um cosmético mais compatível e com menor impacto ambiental para os consumidores, principalmente para os homens que não são utilizados neste mercado. Em

relação às demais características, os homens procuram produtos cosméticos multifuncionais e a proteção solar pode ser uma vantagem.

Com relação à formulação de uso noturno para a avaliação de eficácia, a adição dos óleos essenciais reduziu a viscosidade de formulações cosméticas, levando à separação de fases. Dessa forma, um design fatorial foi desenvolvido visando obter uma formulação veículo capaz de suportar a perda de viscosidade ocasionada pelos ativos cosméticos sem sofrer separação de fases.

Em relação ao desenvolvimento da formulação cosmética, a ideia inicial foi evitar a utilização do óleo de Argan como emoliente. Porém, apenas os ingredientes iniciais não sustentaram o óleo essencial, especialmente de melaleuca, a 2%, e decidimos não reduzir mais o composto ativo, pois os estudos de eficácia com esse óleo essencial são em maior concentração e a eficácia pode ser comprometida (HAMMER, 2015). Observamos redução dos parâmetros físico-mecânicos da formulação e optamos pelo uso de um copolímero (Carragena Iota) e um emoliente (Óleo de Argan) para melhorar a solubilização do óleo essencial e estabilidade cosmética, uma vez que a formulação cosmética não apresentava fase oleosa além do emulsificante e do óleo essencial.

O problema com a adição do óleo essencial dizia respeito às características físico-mecânicas da formulação cosmética, então foi realizado um planejamento fatorial utilizando essas características como resposta. É importante ressaltar que estamos buscando o maior valor de viscosidade entre as vinte e sete formulações desenvolvidas (fatorial 3³). Optamos pelo óleo de Argan por apresentar alto teor de ácido linoléico em sua composição e pele com acne pode apresentar redução desse ácido graxo (LI et al., 2017).

O aumento das características físico-mecânicas em uma combinação sinérgica pode ser correlacionado com as propriedades carragena. Essas algas aumentam as viscosidades das formulações cosméticas na presença de íons, moléculas com carga (ANDRADE et al., 2012). A utilização de um óleo em combinação aumentou as características físico-mecânicas das formulações. Desta forma, o aumento nos parâmetros de textura pode estar relacionado com a interação entre esses dois ingredientes de forma sinérgica. A utilização do estudo fatorial foi essencial para que os óleos possam ser estabilizados no veículo e que os estudos de eficácia sejam apresentados de forma coerente.

Quando adicionamos os óleos essenciais na formulação veículo com maior concentração de ambas as matérias primas e 800 rpm de agitação, observamos que a viscosidade

continuava a cair, entretanto, não foi observada separação de fases. A utilização de nano emulsão resultou em uma menor perda de viscosidade. Isso tem impactos importantes até mesmo em escala industrial, pois pode afetar diretamente nas propriedades de fluidez da formulação, podendo resultar em problemas em toda a linha de produção. A utilização da nano emulsão não afetou o comportamento reológico como o óleo essencial, sendo uma boa alternativa para evitar problemas de estabilidade.

A utilização de nanoemulsão mostrou-se não apenas uma boa alternativa para a estabilidade do óleo essencial, mas também para a manutenção das características físico-mecânicas de formulações cosméticas estabilizadas com hidrocoloides como as redes de amidos. Isso porque o óleo essencial não está em contato direto com as redes poliméricas, bem como a concentração final de óleo essencial na formulação também está reduzida. Outro fator importante é que a nanoemulsão apresenta seu próprio sistema emulsionante, auxiliando ainda mais na estabilização do sistema.

Essa etapa nos deu subsídios para: avaliar a aplicação de base cosmética biodegradável e estudar seus potenciais, estudo detalhado sobre desenvolvimento de fotoprotetores, além do estudo detalhado sobre efeito da adição de óleos essenciais em formulações cosméticas. Ainda, foi importante para a avaliação da estabilidade das formulações cosméticas que seriam utilizadas na etapa clínica.

8. CAPÍTULO IV: CARACTERIZAÇÃO DA PELE E EFICÁCIA CLÍNICA

8.1. Casuística e delimitação dos estudos

Para a melhor compreensão, cada uma das etapas com suas características está simplificada inicialmente na tabela 18.

Tabela 18: Simplificação das etapas de estudos envolvendo voluntários. Nem todos os participantes da parte de caracterização da pele participaram das fases de *wash-out* e eficácia clínica

	Nº de voluntários	Técnicas de biofísica e imagem da pele	Região de avaliação
Questionário	385	-	-
Entrevista	115	-	-
Caracterização da pele jovem	60	MCR*, TEWL, Corneometer, Sebumeter, Sebufix, Porfirina, DermaScan, VisioScan, Visioface, Dermatoscopia	Frontal e Malar
Caracterização da pele madura	15	MCR, Dermatoscopia, Visioface	Frontal e Malar
Wash-out	66	MCR**, TEWL, Corneometer, Sebumeter, Sebufix, Porfirina, DermaScan, VisioScan, Visioface, Dermatoscopia, Mexameter	Frontal e Malar
Eficácia clínica	66	MCR**, TEWL, Corneometer, Sebumeter, Sebufix, Porfirina, DermaScan, VisioScan, Visioface, Dermatoscopia, Mexameter	Frontal e Malar
Avaliação sensorial	40	-	Antebraço
Avaliação filmógeno	10	MCR, TEWL, Corneometer	Antebraço

*Foram selecionados 25 participantes para essa técnica; **Foram selecionados 6 participantes de cada grupo para essa técnica, totalizando 30.

8.1.1. Caracterização da pele masculina jovem, hábitos de fotoproteção e eficácia de produtos cosméticos à base de óleos essenciais

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (CEP/FCFRP 58368416.6.0000.5403), o estudo foi divulgado em mídia digital, televisiva e rádio com o auxílio da imprensa USP de Ribeirão Preto e os participantes interessados deveriam enviar e-mail para cadastro. Esse estudo está de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, revisado em 1983. Foram recebidos 163 e-mails de interessados em participar do estudo clínico. Desses, 105 estavam aptos a participar do estudo por estarem dentro das normas e fora dos critérios de exclusão.

Para participar, todos deveriam ser do sexo masculino, com idade entre 18 e 28 anos, residentes em Ribeirão Preto, com pele oleosa com tendência à formação de comedões. Durante a caracterização, o participante precisaria apresentar valor superior a $150\mu\text{g}/\text{cm}^2$ na avaliação de sebo superficial através da sebometria.

Além disso, selecionamos participantes que poderiam ou não apresentar algum grau de fotoenvelhecimento cutâneo. Todos os entrevistados foram entrevistados com relação ao uso de protetor solar e das influências sociais que poderiam ser uma barreira para a aderência à aplicação regular. Foram questionadas as influências de amigos, família, mídia e o teor de comentários que poderiam ou não interferir na aderência ao uso de protetor solar. Também foram questionados quanto à escolaridade e aos hábitos diários de exposição solar.

Os critérios de não-inclusão foram: ser fumante, estar fazendo ou ter feito tratamento com isotretinoína oral no último ano, apresentar doença metabólica e/ou endocrinológica, doença metabólica (exceto acne leve) ter realizado cirurgia ou procedimentos invasivos nos últimos seis meses, presença de lesões pápulo-postulosas e pápulo-císticas de forma prevalente e todos aqueles que apresentaram quadros de hipersensibilidade ao uso de qualquer cosmético. Os casos de acne foram analisados pelo dermatologista responsável do estudo, Dr. João Carlos Simão e, nos casos de acne inflamatória prevalente, foram encaminhados para o ambulatório do HC em Ribeirão Preto.

Todos os participantes do estudo, mesmo aqueles que apenas realizaram as entrevistas, foram orientados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo CEP FCFRP. Após a assinatura os dados pessoais eram recolhidos e o estudo era apresentado aos participantes. Basicamente ele consistiu em 5 etapas:

- 1) Entrevista sobre hábitos de vida, influências culturais, aspectos relacionados a acne e uso de cosméticos (n=115; 100 jovens entre 18 e 28 anos; 15 homens acima de 30 anos);
- 2) Caracterização da pele (n=75; 60 jovens entre 18 e 28 anos; 15 homens acima de 30 anos)
- 3) Primeiras medidas de imagem e biofísicas na pele, suspensão de uso de qualquer outro cosmético e entrega de fotoprotetor FPS 50 desenvolvido pelo doutorando (n=66);
- 4) Retorno ao laboratório para as medidas basais e entrega de um produto dos 5 grupos de estudo após 15 dias (fim do *wash-out*; T0);
- 5) Retorno ao laboratório após 45 dias de uso de fotoprotetor de manhã e uso de gel-creme noturno para as medidas biofísicas e de imagem da pele (T45);
- 6) Retorno ao laboratório após 90 dias de uso de fotoprotetor de manhã e uso de gel-creme noturno para as medidas finais de biofísicas e de imagem da pele. Os participantes do grupo sem ativos cosméticos receberam o controle positivo do estudo, com óleo de melaleuca (T90).

8.1.2. Hábitos de fotoproteção e desenvolvimento de score clínico de imagens de MCR para avaliação do fotoenvelhecimento

Foram recrutados 15 participantes com idade entre 30 e 50 anos e 25 entre 18 e 30 anos que foram questionados sobre o uso de protetor solar e as influências para sua aplicação. Foram realizadas análises de microscopia confocal de reflectância a laser (MCR) e obtidas fotografias de alta resolução da face dos participantes.

As imagens de MCR foram obtidas na região frontal e malar direita dos participantes em quintuplicata e as três com melhor resolução foram utilizadas para a análise. Foram atribuídos scores de 1 a 5 a cada uma das oito características analisadas, sendo que cada duas análises diziam respeito a uma camada da pele. Dessa forma o score para cada camada foi dado de 2 a 10, sendo analisados: estrato córneo (brilho e forma), Estrato granuloso (padrão favo de mel e comedões), Junção derme-epiderme (densidade e qualidade papilar) e derme papilar (qualidade e densidade do colágeno). Após o score foi atribuída uma média geral para as condições relativas ao fotoenvelhecimento em jovens e adultos, correlacionado com os hábitos de fotoproteção e idade, a fim de entendermos melhor a extensão de dados da exposição solar e podermos correlacionar com o *lifestyle*, por exemplo.

8.1.3. Caracterização da pele oleosa masculina com tendência à formação de comedões

Para avaliar a eficácia das formulações cosméticas com relação à formação de comedões o estudo foi dividido em três etapas:

- a. Análise das regiões da face e das metodologias de imagem da pele, correlacionando com a porfirina para escolha da melhor região e das melhores metodologias de estudo;
- b. Estudo das características morfológicas dos comedões formados em pele oleosa em diferentes camadas da pele usando MCR;
- c. Avaliação da eficácia das formulações cosméticas deste estudo.

O primeiro passo consistiu no estudo da caracterização da pele para identificar a melhor região de estudo e conhecer as técnicas de imagem e suas possíveis limitações. Nessa etapa utilizamos imagens de alta resolução da face, imagens de micro relevo cutâneo, dermatoscopia e imagens de MCR. Também avaliamos possível correlação de hábitos de uso de fotoprotetor, oleosidade da pele e formação de comedões.

Para fornecer a caracterização completa da pele, a pele foi pontuada, usando uma escala de cinco pontos para o número de comedões visíveis na imagem, onde um significa ausente e cinco um grande número de comedões. Para alta resolução e imagens de micro relevo foi analisada a região frontal e malar. Para dermatoscopia e imagens de RCM, a região malar foi estudada.

O aparelho Visioscan[®] VC 98 (Courage & Khazaka, Alemanha) foi usado para avaliar o micro relevo da pele, que avalia as características da superfície da pele por meio de técnicas de perfilometria óptica com um processo de varredura por câmera. As imagens foram utilizadas para a contagem de comedões, que é definida por manchas pretas características nas regiões de estudo, e para isso as imagens foram obtidas em triplicata. A contagem foi realizada no software Image J[®] e desenvolvido um escore clínico, onde: 1 - ausência de comedões, 2 - valores entre um e cinco comedões, 3 - até dez pequenos comedões; 4 - entre cinco e dez comedões grandes; 5 - mais de 10 comedões.

A avaliação das características celulares e teciduais dos poros e comedões foi realizada por meio da Microscopia Confocal de Reflectância Vivascope[®] 1500 - RCM (Lucid, Estados Unidos), que permite avaliação cutânea não invasiva *in vivo* com resolução semelhante à histologia convencional. As lesões acneicas não inflamatórias foram classificadas quanto ao tamanho, forma e presença de hiperqueratinização, presença de material amorfo na área

folicular e/ou infiltrado inflamatório. Foram analisadas 60 lesões (30 por grupo) e os resultados apresentados em percentual em relação ao total.

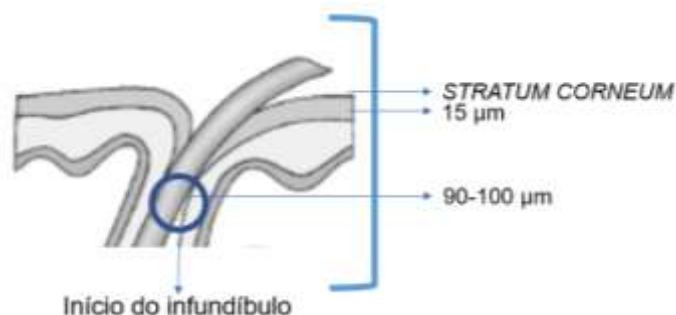
Imagens macroscópicas foram obtidas por meio da câmera macroscópica digital (VivaCam[®]) para a contagem dos comedões. A contagem foi realizada no software Image J[®]. As imagens foram classificadas de acordo com o número de comedões na área analisada, onde 1 significa baixa densidade de comedões e 5 uma alta densidade de comedões.

Em segundo momento do estudo, os comedões foram analisados para o estudo das características morfológicas e estruturais e quais são os impactos na arquitetura da pele.

A avaliação das características morfológicas e estruturais das diferentes camadas da pele foi realizada por meio do RCM. As imagens foram interpretadas de acordo com a literatura recente e com o auxílio do software Image J[®]. Neste estudo, avaliamos apenas comedões abertos e folículos saudáveis.

Para a avaliação dos comedões medimos a área de três regiões distintas das lesões: estrato córneo, profundidade de 15 μ m (camada granular) e entre 90-100 μ m na região da derme papilar (Figura 29). Foram analisados seis folículos por participante, 3 na região frontal e 3 na região da bochecha, totalizando 180 folículos no estudo. Ainda, para cada região, foram analisados 20 folículos saudáveis. A avaliação das características visuais foi realizada nas camadas granulares uma vez que com o suporte das imagens MCR é possível observar a forma e outras características como hiperqueratinização e/ou presença de ácaros. Como a formação de comedões altera especialmente a área dos folículos, esse foi o parâmetro analisado de acordo com

Figura 29: Região do folículo e regiões selecionadas para a análise do MCR. Adaptado de Lademann et al. 2015



Para o estudo de eficácia, foram utilizadas as metodologias apresentadas anteriormente de acordo com a resposta do clínico, comparando os grupos após 90 dias de uso das formulações cosméticas.

O estudo foi classificado como um estudo placebo-controle, duplo cego e randomizado. A randomização foi feita utilizando o software on-line RANDOM que está disponível em www.random.org e permite a inclusão do número de participantes e grupos de estudo. Os grupos foram divididos por outros membros do grupo de pesquisa e as embalagens de cosméticos foram etiquetadas e separadas em cores de etiquetas sem a presença do pesquisador principal.

Os cinco grupos de pesquisa foram:

- A) 3OE (cor azul) – fotoprotetor F2 + formulação gel-creme noturna com óleos essenciais de lavanda, eucalipto e tangerina-cravo (total de 2%, dividido igualmente);
- B) 4OE (cor amarela) – fotoprotetor F2 + formulação gel-creme noturna com óleos essenciais de melaleuca, lavanda, eucalipto e tangerina-cravo (total de 2%, dividido igualmente);
- C) Nano (cor laranja) – fotoprotetor F2 + formulação gel-creme noturna com nanoemulsão de melaleuca (PharmaSpecial) a 2%;
- D) Melaleuca (cor vermelha) – fotoprotetor F2 + formulação gel-creme noturna com óleo essencial de melaleuca livre a 2%;
- E) Veículo (cor verde) – fotoprotetor F2 + formulação gel-creme noturna sem adição de ativos (grupo placebo).

Todos os produtos de uso noturno foram entregues em embalagens do tipo pump de pressão negativa com vazão de 1mL por aplicação. Essa embalagem padroniza a quantidade de produto

aplicado por dia e auxilia para que as substâncias voláteis dos óleos essenciais não sejam trocadas com o ambiente.

Na primeira etapa os participantes foram questionados sobre informações pessoais relacionadas a escolaridade, vida profissional, rotina de trabalho/estudo, frequência de visitas a dermatologistas, uso de produtos cosméticos, hábitos de fotoproteção, sexualidade e influências para o uso e acesso de produtos cosméticos. As entrevistas foram feitas presencialmente com o intuito de aproximar os participantes do estudo do pesquisador principal, bem como reduzir o receio do público masculino em conhecer os produtos cosméticos.

Na segunda etapa foram obtidas as primeiras medidas biofísicas e de imagem da pele. Todos os participantes que retornaram da primeira etapa (60) realizaram as medidas de biofísica e imagem da pele. Realizamos também a caracterização da pele de 15 homens mais velhos. Essa etapa tem como objetivo avaliar como os hábitos de fotoproteção – ou ausência deles – podem afetar nas características biofísicas, morfológicas e estruturais da pele dos participantes. Os participantes foram convidados a retornar para o estudo clínico, porém apenas 40 retornaram.

Na etapa inicial do estudo de eficácia clínica foram obtidas as primeiras medidas biofísicas e de imagem da pele para o estudo de eficácia. Todos os participantes que retornaram da segunda etapa (40) realizaram as medidas de biofísica e imagem da pele. Foram convidados outros participantes da primeira etapa para a realização do estudo clínico e recebemos mais 26 participantes. Todos os participantes receberam a formulação fotoprotetora F2 para utilizarem por 15 dias e foram instruídos a parar de usar qualquer outro cosmético de cuidados com a pele.

Logo após 15 dias foram realizadas as mesmas medidas de biofísica e imagem da pele anteriormente descritas além da entrega do produto de uso noturno de acordo com a randomização realizada previamente. Além disso, todos os participantes foram questionados sobre os hábitos de fotoproteção inseridos em sua rotina, bem como a forma como estão aplicando o produto. A importância da fotoproteção foi reiterada pelo pesquisador, frisando que a reaplicação do fotoprotetor durante o dia é algo importante.

Após 45 dias foram realizadas as mesmas medidas de biofísica e imagem da pele além da reposição, se necessária, do produto de uso noturno e do fotoprotetor. Além disso, todos os participantes foram questionados sobre os hábitos de fotoproteção inseridos em sua rotina, bem como a forma como estão aplicando o produto. A importância da fotoproteção foi reiterada pelo pesquisador, frisando que a reaplicação do fotoprotetor durante o dia é algo importante.

Ao final de 90 dias, foram realizadas as mesmas medidas de biofísica e imagem da pele anteriormente descritas além da entrega do produto de melaleuca para os participantes do grupo controle. Além disso, todos os participantes foram questionados a percepção de eficácia dos produtos, bem como o sensorial dos mesmos. Os participantes foram entrevistados para relatarem os impactos dos novos hábitos de cuidados com a pele em suas vidas. A importância da fotoproteção foi reiterada pelo pesquisador, frisando que a reaplicação do fotoprotetor durante o dia é algo importante e que ela não deve parar ali. Também foi avaliada a percepção de eficácia.

8.2. TÉCNICAS DE BIOFÍSICA E IMAGEM DA PELE

8.2.1. Técnicas para avaliação dos parâmetros de hidratação e integridade da pele

8.2.1.1. Perda transepidermica de água

Para a realização deste estudo foi utilizado o equipamento Tewameter® TM 210, acoplado a um software, cuja função é medir a perda transepidermica de água, baseado no princípio de difusão descrito por Adolf Fick. Os valores são dados em $\text{g.m}^2 \cdot \text{h}^{-1}$. A sonda do aparelho permaneceu por 30 segundos sobre a pele nas regiões dos antebraços e da face, e o valor médio das 3 medidas obtidas neste intervalo de tempo foi empregado nos cálculos posteriores (MAIA CAMPOS et al., 2017).

8.2.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo

O conteúdo aquoso do estrato córneo foi determinado pelo equipamento Corneometer®, baseado no princípio da medição da capacitância elétrica, ou seja, na variação da constante dielétrica da água. Os resultados são apresentados em unidades arbitrárias (AU), onde se estima que 1 AU corresponde a 0,2 - 0,9 mg de água por grama de estrato córneo. Cinco medições foram realizadas em cada região (de MELO & MAIA CAMPOS, 2018).

8.2.2. Técnicas para avaliação dos parâmetros de oleosidade da pele

8.2.2.1. Quantificação do sebo superficial da pele

O conteúdo lipídico foi determinado por um equipamento fotométrico Sebumeter SM815. Uma fita especial opaca é colocada sobre a pele por 30 segundos com uma leve pressão para a coleta do sebo. A transparência da fita é medida e os valores fornecidos representam a quantidade de sebo na pele (DOBREV, 2007). As análises foram feitas em duplicata em cada região.

8.2.2.2. Quantificação do sebo infundibular

A atividade das glândulas sebáceas foi avaliada utilizando SebuFix F16 (Courage & Khazaka, Alemanha), que são folhas contendo um polímero hidrofóbico, que, em contato com o óleo adquirem transparência permitindo a avaliação do número e tamanho das manchas obtidas pela excreção de sebo do infundíbulo. A fita é colocada em contato com as regiões estudadas por 20 segundos, o sebo absorvido se torna visível, como pontos transparentes de diferentes tamanhos, com essas informações é possível obter o número de glândulas sebáceas ativas e a quantidade de sebo secretada por elas, medida pela porcentagem de sebo na fita em relação à área total. A imagem é obtida utilizando a câmera Visioscan VC98 e analisada com o software SELS (Surface Evaluation of the Living Skin) (DOBREV, 2007).

8.2.3. Obtenção de imagens de alta resolução

Para a avaliação das características visuais, foi obtida uma imagem de alta resolução através do dispositivo Visioface Quick[®]. Avaliaram-se características relacionadas ao fotoenvelhecimento: presença de rugas, eritema, efélides, melasma, hiperpigmentação pós-inflamatória (PIHP) e/ou telangectasias. Além disso, foram analisadas as características relacionadas à acne dos participantes com o auxílio do dermatologista responsável pelo estudo. O software do aparelho foi capaz de fornecer o número de poros totais das regiões da face de acordo com a seleção do autor.

8.2.4. Obtenção de imagens do micro relevo cutâneo

Neste estudo foi utilizado o equipamento Visioscan[®] VC 98, o qual permite a avaliação quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas, por meio de técnicas de profilometria óptica, as quais utilizam um processo de digitalização de imagem obtida por uma câmera de vídeo. Com esse dispositivo utilizamos a visualização e caracterização de comedões (DE MELO & MAIA CAMPOS, 2018; CAMPOS et al, 2019).

8.2.5. Ecogenicidade da derme

A avaliação da espessura e ecogenicidade da derme foram realizadas por um ultrassom de 20 MHz Dermascan C[®] que contém um foco de transdutor que é utilizado para a obtenção de imagens transversais bidimensionais, representadas no software de modo-B. A onda ultrassônica (velocidade de 1580 ms^{-1}) é parcialmente refletida pela estrutura da pele, dando origem a ecos de diferentes amplitudes. Para calcular a ecogenicidade, o número de pixels com baixa ecogenicidade é medido por meio do software de análise de imagens e relacionado ao número total de pixels. A razão de ecogenicidade foi calculada como uma razão entre o número

de pixels ecogênicos baixos e o número de pixels ecogênicos totais (PEB/PET). Esse parâmetro foi analisado nas regiões malar direita e frontal da face (de MELO & MAIA CAMPOS, 2018). Relação de ecogenicidade é a relação entre os pixels subecogênicos e os pixels hiperecogênicos. Um valor mais alto da razão de ecogenicidade significa baixa qualidade da derme em termos de densidade de colágeno. Para melhores resultados e discussão também dividimos os grupos de acordo com uma avaliação visual das imagens de ultrassonografia.

8.2.6. Mexameter® MX 16

Este colorímetro de refletância simples de banda estreita analisa uma área de 20 mm², ou seja, um disco de 5 mm de diâmetro. O dispositivo contém 16 diodos posicionados na periferia do fotodetector. Os diodos emitem a 568, 660 e 880 nm, que correspondem respectivamente à luz verde, vermelha e infravermelha. A foto detecção da luz refletida após as emissões no verde e no vermelho permite calcular o conteúdo de hemoglobina cutânea (ou seja, valor de eritema com unidades arbitrárias), enquanto a análise da luz refletida de comprimentos de onda no vermelho e infravermelho próximo fornece valores de conteúdo de melanina da pele (ou seja, valor de melanina também com unidades arbitrárias) (BAQUIÉ & KASRAEE, 2014).

8.2.7. Microscopia confocal de reflectância a laser (MCR)

A avaliação das características celulares das diferentes camadas da pele foi realizada utilizando o MCR (Vivascope™ 1500) que utiliza uma fonte de laser com comprimento de onda de 830 nm e uma objetiva de imersão capaz de detectar 20 imagens por segundo (SAUERMAN et al., 2002). Imagens microscópicas foram realizadas usando dois sistemas de imagem, Vivastack, que são múltiplas imagens profundas e confusas em um determinado local do tecido, e imagens de 3 por 3 µm foram obtidas até 150 µm de profundidade. As imagens serão interpretadas de acordo com a literatura recente e com a ajuda do software Image J®.

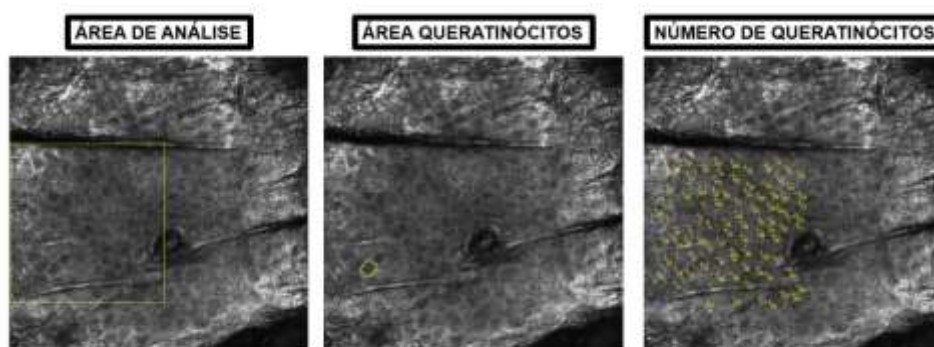
Foram realizadas as análises quantitativas: espessura mínima epidérmica (camada granulosa ao final da espinhosa), espessura máxima epidérmica (camada granulosa até o final das papilas), espessura epidérmica viável (média entre as duas citadas anteriores), área dos comedões e folículos saudáveis no estrato córneo, estrato granuloso (15µm de profundidade) e na derme papilar. As análises qualitativas foram: padrão favo de mel, pigmentação, tipo de comedões (disforme ou regular), presença de comedões causados por ácaros, presença de hiperqueratinização folicular, presença de infiltrado inflamatório, presença de queratinócito esfoliativo na borda, papilas policíclicas, aspecto estrutural das papilas e das fibras de colágeno (LONGO et al., 2013; MANFREDINI et al., 2015; MARTINI, MERCÚRIO & MAIA

CAMPOS, 2017). A avaliação foi realizada em triplicata e a análise foi positiva para as características se, pelo menos, dois stacks revelarem a alteração.

Ainda, foram analisados os parâmetros na camada granulosa: área dos queratinócitos e número de médio de células. Para a área, 15 queratinócitos eram selecionados aleatoriamente e sua área era medida manualmente através do Software ImageJ. A análise foi realizada em triplicata. Para o número médio, separava-se uma área correspondente a um quarto da área total da imagem (249000pixels² ou 31125μm²) e era contado o número médio de queratinócitos encontrados em triplicata com auxílio do software Image J (Figura 30). A análise da área dos queratinócitos na camada granular também foi importante para a avaliação das características filmógenas de formulações cosméticas.

Foram realizadas também imagens de alta resolução da superfície da pele com o dermatoscópio acoplado à MCR, VivaCam® para a análise das características da superfície da pele.

Figura 30: Imagens representativas da área e número aproximado de queratinócitos na cada granulosa - microscopia confocal de reflectância a laser e o software Image J



Para o estudo de eficácia utilizando a microscopia confocal foram selecionados, aleatoriamente, 6 participantes de cada grupo, ou seja, 30 participantes. Para o estudo de caracterização, realizado na segunda etapa do estudo, foram selecionados 25 participantes aleatoriamente respeitando a proporção encontrada no estudo geral entre aqueles que usam ou não fotoprotetores.

8.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O primeiro passo para o tratamento de todos os dados foi a delimitação da distribuição dos dados estatísticos. Para isso foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para analisar a normalidade das amostras.

Os dados experimentais obtidos nos estudos clínicos de avaliação de eficácia foram submetidos à análise estatística para a interpretação dos mesmos sendo que, no caso da

distribuição ser normal, o teste indicado foi a Análise de Variância e no caso de a distribuição não ser normal, a estatística foi a não-paramétrica, aplicando o teste de Kruskal-Wallis, para dados não vinculados. Os resultados foram apresentados na forma de gráficos, tabelas e figuras e discutidos frente aos dados fornecidos pela literatura consultada.

Para testes em que apenas dois grupos são apresentados o teste t de Student foi aplicado, sendo paramétrico ou não paramétrico de acordo com a distribuição normal. Para mais de dois grupos utilizamos o teste ANOVA com análises de múltiplas comparações. As análises de múltiplas comparações foram realizadas com teste de Tukey, em caso de distribuição normal e teste de Dunn para casos de distribuição não paramétrica.

Para avaliar a correlação entre todos os parâmetros de estudo foi utilizada correlação de Pearson (distribuição normal) ou Spearman (distribuição não-normal) com auxílio do programa computacional GraphPad Prism 8.

As diferenças estatísticas foram consideradas significativas para valores onde $p < 0,05$, mas em casos de valores superiores e próximos, assinalamos como possível tendência.

As análise de componente principal (PCA) foram realizadas para comparar os resultados obtidos em do escore de fotoenvelhecimento para entender qual a influência da idade, do hábito e quais são as camadas da pele mais afetadas. Esse teste foi realizado com o software MiniTab versão 18.

8.4. RESULTADOS

8.4.1. NORMAS MASCULINAS E UTILIZAÇÃO DE FOTOPROTETORES

Nesta etapa utilizamos 115 participantes, sendo 100 entre 18 e 29 anos e 15 com idade entre 30 e 50 anos. A idade média encontrada foi de $26,3 \pm 8,5$ anos. Trinta e sete homens declararam aplicar protetor solar pelo menos três vezes na semana, sendo 34 mais jovens e 3 mais velhos (20% em relação ao total de homens maduros). Os participantes mais jovens (18 a 29 anos) declararam se expor mais ao sol do que os participantes mais velhos (30 a 50 anos), visto que os participantes mais velhos deste estudo declararam trabalhar em ambientes fechados durante o dia.

Entre os mais jovens, vinte e cinco participantes nunca haviam feito uso de protetor solar e doze deles nunca haviam consultado o dermatologista. Eles foram convidados a explicar sobre sua possível adesão a uma intervenção com uso de protetor solar. Alguns apontaram o fato cultural como uma barreira, pois essa prática está associada ao público feminino. Além

disso, frequentemente afirmam que o fotoprotetor não é um produto essencial. Os participantes sem hábitos de fotoproteção nunca mencionaram características relacionadas à formulação do protetor solar, como propriedades sensoriais ou preço.

A maior preocupação dos jovens com hábitos de proteção solar ($n = 34$) foi com a sensação sensorial dos produtos, com alguns deles reclamando dos resíduos oleosos e/ou brancos ou do cheiro das formulações. Quatorze dos participantes com hábitos de fotoproteção declararam usar outro produto para a pele que não de higiene, como um hidratante.

Entre os homens mais velhos observou-se um efeito semelhante das barreiras culturais, porém mais frequente. Muitos deles alegaram que a utilização de fotoprotetor é desencorajada pela própria família, entretanto, encorajada pela parceira. A questão de associação da imagem de cosméticos com público homossexual é também maior preocupação para esse público, sendo que 10 dos 15 participantes mostraram algum tipo de incômodo com essa associação. Os outros cinco ou se declararam homossexuais e/ou já utilizavam fotoprotetores.

Os participantes mais jovens (18 a 29 anos) declararam se expor mais ao sol do que os participantes mais velhos (30 a 50 anos). Uma das percepções foi com relação ao ambiente de trabalho dos homens mais velhos: ambientes fechados como escritórios, levando a uma menor exposição solar direta durante o dia.

Todos os participantes afirmaram utilizar produtos de higiene pessoal, como xampus, desodorantes e perfumaria, especialmente segmentados para homens. Os principais produtos para a pele utilizados foram para o tratamento da acne e para o controle da pele oleosa. O fator de proteção solar dos fotoprotetores utilizados antes da pesquisa variou entre trinta e cinquenta. A utilização de produtos cosméticos com propriedades antienvhecimento não foi uma grande preocupação entre todos os participantes, jovens ou adultos. Os participantes que aplicam protetor solar regularmente afirmam usar apenas uma fina camada da formulação do filtro solar.

Todos os participantes jovens deste estudo afirmaram que se expõem ao sol pelo menos duas vezes ao dia devido à rotina de estudos e/ou trabalho. Em relação aos sujeitos que usam protetor solar com frequência, eles afirmaram começar a aplicar esse produto cosmético na região frontal na face e depois aplicar em outras regiões.

8.4.2. CARACTERIZAÇÃO DA PELE MASCULINA JOVEM FOTOENVELHECIDA

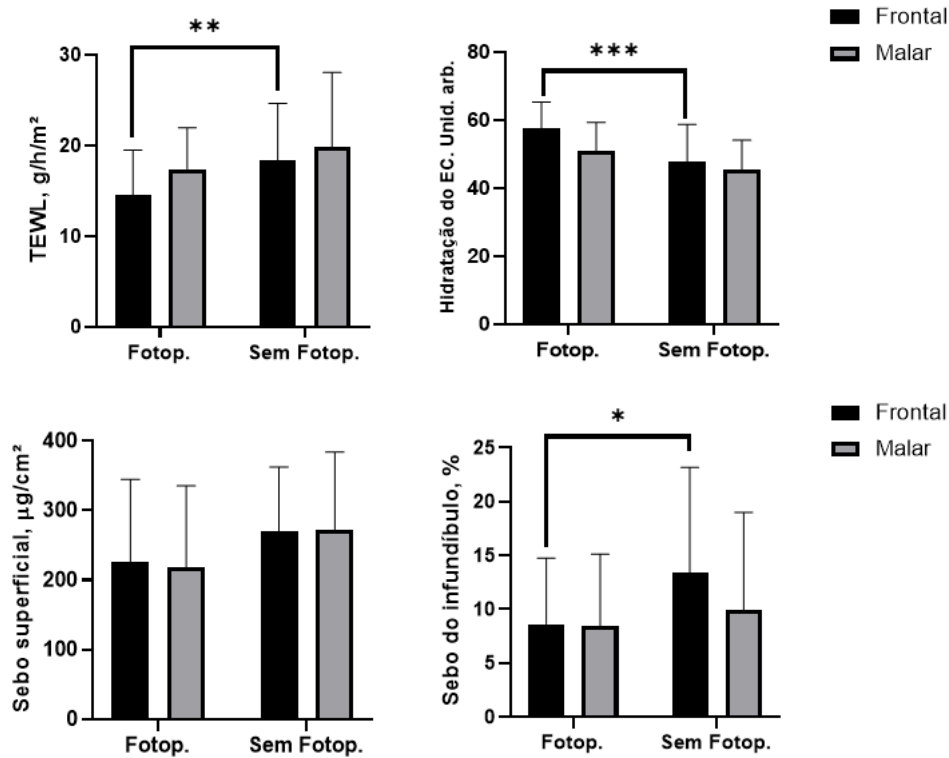
Em um primeiro momento, avaliamos 60 participantes com relação às características morfológicas, estruturais e hidrolipídicas da pele (Tabela 19).

Tabela 19: Características dos participantes jovens do estudo de caracterização

	Hábitos de fotoproteção	Sem hábitos de fotoproteção
Número	24	36
Idade ± DP	23.2±3.8	22.3±4.1
Fototipo	II=10; III=12; IV=2	II=15; III=19; IV=2
Tipo de pele	Oleosa= 20; Mista= 4	Oleosa = 29; Mista= 7
Escolaridade	Estudante de graduação= 18; Estudante de pós-graduação = 6	Ensino médio= 6; Estudante de graduação = 22; Estudante de pós-graduação = 8

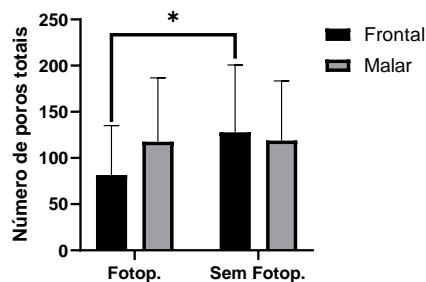
Os participantes com hábitos de proteção solar apresentaram níveis mais baixos de TEWL na região frontal se comparados ao grupo sem hábitos de proteção solar ($p = 0,006$). Para o conteúdo aquoso do estrato córneo, foi possível analisar um panorama semelhante. Diferenças não foram encontradas entre os dois grupos para o sebo superficial nas duas regiões. A variação dos resultados foi maior para o grupo sem hábitos de aplicação de protetor solar (Figura 31). Não foram encontradas diferenças significativas de acordo com as regiões de acordo com cada grupo.

Figura 31: Caracterização hidrolipídica da pele da região frontal facial de acordo com o hábito de fotoproteção. A TEWL, conteúdo aquoso do estrato córneo, conteúdo lipídico da superfície da pele e sebo infundibular são apresentados nesta figura explicando as diferenças nestes parâmetros de acordo com o hábito. (*) significa $0,05 < p < 0,01$; (**) $0,01 < p < 0,001$ e (***) $p < 0,001$



Foi possível observar também um maior valor de número de poros totais para o grupo sem fotoproteção em ambas as regiões, mas com destaque na região frontal, onde apresentou diferença significativa quando comparado com o grupo que apresenta hábitos de fotoproteção ($p=0,041$) (Figura 32).

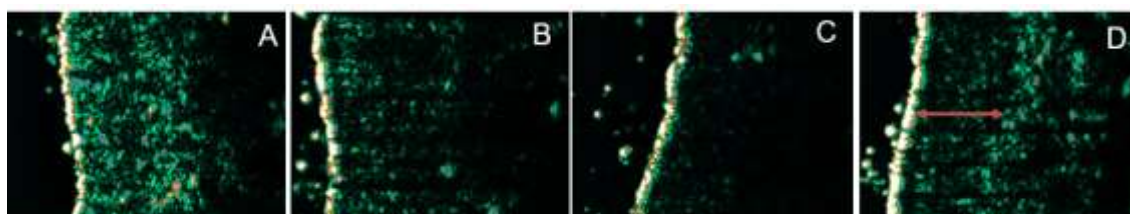
Figura 32: Poros totais de acordo com hábitos e regiões faciais, onde (*) significa $p < 0,05$



Em relação à razão de ecogenicidade total: valores inferiores a 0,9 foram encontrados apenas para os participantes que faziam uso de fotoprotetor (média de $0,84 \pm 0,02$), enquanto

para os participantes que não tinham o hábito de fotoproteção, o valor médio foi de $0,94 \pm 0,03$, o que significa diferença quando comparados estatisticamente ($p < 0,001$). Quanto mais baixa a razão de ecogenicidade (pixels ecogênicos baixos e o número total de pixels ecogênicos), melhor é a qualidade da derme. Nenhuma diferença significativa foi encontrada na espessura da derme entre os dois grupos. Foi observado que os participantes sem hábitos de proteção solar apresentam a ausência de pixels nas imagens de ultrassonografia e uma avaliação visual foi realizada, dividindo os participantes como apresentado na figura 33.

Figura 33: Classificação de ecogenicidade no estudo. (A) é normal, (B) é uma ecogenicidade reduzida, com baixos pixels hiperecogênicos em toda a derme, (C) é uma ecogenicidade ausente com a prevalência de pixels hipoeecogênicos e (D) é uma derme com processo de formação da faixa subecogênica (seta vermelha)



Quando dividimos os participantes de acordo com os hábitos de fotoproteção e as morfologias das dermes obtidas, encontramos que:

- Normal = 23 participantes (18 com hábitos de fotoproteção e 5 sem);
- Reduzido = 12 participantes (2 com hábitos de fotoproteção e 10 sem);
- Ausente = 18 participantes (0 com hábitos de fotoproteção e 18 sem);
- Banda subecogênica = 7 (4 com hábitos de proteção e 3 sem).

A avaliação visual das alterações utilizando imagens de alta resolução devido à exposição ao sol revelou que 12 participantes tinham efélides, 25 telangiectasias, 32 tinham PIHP, cinco tinham melasma e dez apresentavam rugas na região frontal. Apenas 12 participantes - com hábitos de proteção solar - não apresentaram alterações visíveis. A presença de rugas foi observada apenas em participantes sem hábitos de fotoproteção.

Em um segundo momento realizamos a análise de acordo com as imagens de MCR. Neste estudo, 10 participantes declararam usar filtro solar regularmente e 15 não, respeitando o mesmo percentual de uso de filtro solar. Os valores de TEWL, conteúdo aquoso do estrato córneo, quantidade de sebo na superfície da pele e quantidade de sebo infundibular para esses

25 participantes foram separados e são apresentados na tabela 20 para que seja possível estabelecer uma correlação com as avaliações de MCR. O grupo sem hábitos de fotoproteção apresentou redução da espessura média da epiderme, com menor profundidade papilar. Maior espessura do estrato córneo também foi observada neste grupo (Tabela 20). A área de queratinócitos das células do estrato granuloso foi maior para o grupo com hábitos de fotoproteção (Tabela 20).

Tabela 20: Resultados de acordo com os 25 participantes jovens que participaram da caracterização com MCR

	Fotoproteção	Sem fotoproteção	<i>p</i> value
	Média	Média	
TEWL (g/h/m ²)	15±1	18±2	0.003
Cont. aquoso EC (unid. Arb.)	58±8	49±11	<0.001
Sebo superficial (µg/cm ²)	226±24	270±10	NS
Sebo infundibular (%)	9±5	13±6	0.03
Razão de ecogenicidade	0.86±0.01	0.93±0.01	<0.001
Espessura da derme (mm)	2.53±0.06	2.45±0.07	NS
Espessura média da epiderme (µm)	51.27±0.88	45.97±0.87	<0.001
Espessura do estrato córneo (µm)	9.53±0.36	12.36±0.38	<0.001
Profundidade de papila (µm)	39.65±0.8	34.63±0.83	<0.001
Área de queratinócitos (µm ²)	176±6	121±2	<0.001
Número médio de queratinócitos	473±16	515±18	NS

O conteúdo aquoso do estrato córneo, TEWL, espessura do estrato córneo e área de queratinócitos foram selecionados para uma correlação de Pearson entre os 25 participantes que participaram das análises de MCR. As correlações mais expressivas foram envolvendo a espessura do estrato córneo com o conteúdo aquoso do estrato córneo ($r = -0,634$; $p < 0,001$) e área de queratinócitos ($r = -0,691$; $p < 0,001$). A correlação entre a espessura do estrato córneo e os parâmetros de hidratação da pele é inversa, ou seja, quanto maior a espessura, menores os parâmetros de hidratação. A área de queratinócitos apresentou tendência de correlação com TEWL ($r = -0,599$; $p = 0,002$).

Com relação aos participantes que participaram na MCR, foram observadas que as alterações visíveis estão, de certa forma, correlacionadas com alterações também na morfologia e estrutura da pele fotoenvelhecida. Há uma grande correlação com o hábito de fotoproteção (Tabela 21).

Tabela 21 - Informação sobre características da pele dos participantes do estudo e os resultados obtidos na avaliação visual por médico e refletância confocal análise de imagem microscópica

Idade	Fotoproteção	Fototipo	Razão ecogenicidade	Espessura EC (µm)	Alterações visuais	Descritores MCR
18	SIM	III	0.7987	10	HPPI	HPPI
18	SIM	III	0.8387	12	-	-
26	SIM	II	0.6481	11	E	E
24	SIM	IV	0.8256	10.5	-	-
21	SIM	III	0.8541	12	-	-
19	SIM	II	0.8822	12	HPPI	HPPI
23	SIM	II	0.8889	13.5	E	E
20	SIM	II	0.8824	13.3	E	E
27	SIM	III	0.8970	8.5	-	-
24	SIM	IV	0.8545	9.5	-	-
19	NÃO	III	0.9769	17.5	R, T	PCP, IHP, CH, IV
24	NÃO	II	0.9205	13	T	PCP, IHP, IV, CCF
22	NÃO	IV	0.9235	12	HPPI	PCP, HPPI
24	NÃO	III	0.9348	15	HPPI	IV, HPPI
23	NÃO	II	0.9354	15.3	T	PCP, IHP, IV
21	NÃO	III	0.9763	13.5	HPPI	HPPI, CCF
19	NÃO	IV	0.9298	14.5	M	M, CCF
22	NÃO	II	0.9124	13	HPPI, T	IHP, PCP, CH, HPPI
22	NÃO	III	0.9735	10.5	R, HPPI	HPPI, CCF
22	NÃO	IV	0.9492	10	R, M	M, IHP
25	NÃO	III	0.9294	14	M	M, PCP, IHP, CCF

28	NÃO	II	0.9729	15.5	HPPI,T	IV, CCF
27	NÃO	II	0.9071	12	HPPI, E	CCF, IHP, HPPI
26	SIM	III	0.8765	9	-	-

EC = estrato córneo; HPPI - hiperpigmentação pós-inflamatória; E - Efélides; R - rugas; T- telangiectasias; M - melasma; PCP - papilas policíclicas; IHP - padrão de favo de mel irregular; CH - aglomerados de colágeno; IV - aumento da vascularização; CCF - fibras grossas de colágeno.

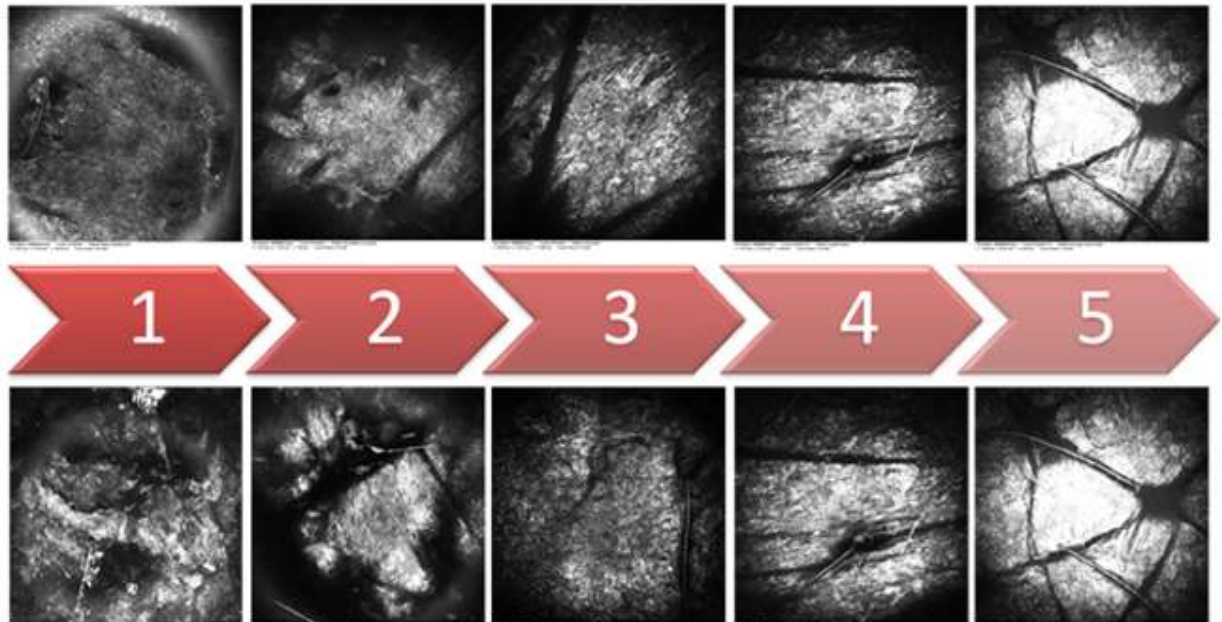
8.4.3. DESENVOLVIMENTO DE SCORE COM IMAGENS DE MCR PARA AVALIAÇÃO DO FOTOENVELHECIMENTO

Nesta etapa, com 40 participantes, 25 entre 18 e 30 anos e 15 entre 31 e 50 anos, desenvolvemos um escore de fotoenvelhecimento levando em conta mais de quarenta estudos publicados utilizando a MCR como ferramenta para avaliação das características morfológicas e estruturais da pele. Para tanto, separamos o estudo em quatro regiões distintas, cada uma com dois descritores. Para o estrato córneo avaliou-se o brilho e a textura; estrato granuloso os comedões e o padrão favo-de-mel; para a junção derme-epidérmica a densidade e qualidade de papilas e na derma papilar a densidade e qualidade do colágeno.

Além disso, perguntamos aos participantes sobre os hábitos de exposição de fotoproteção. Os participantes acima de 30 anos não se expõe tanto ao sol como os mais jovens que tendem a praticar mais esportes ao ar livre, além de que os participantes acima de 30 anos alegaram trabalhar quase que o dia todo em local fechado, sem grande incidência solar. Essas informações foram importantes para que possamos correlacionar com os resultados obtidos na MCR.

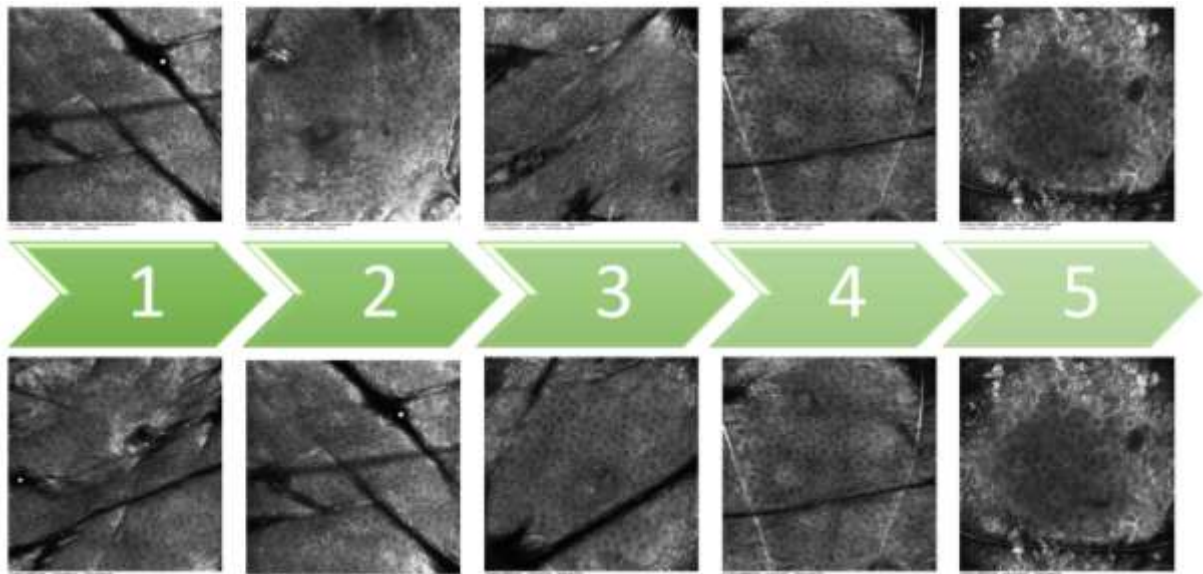
Primeiramente, para o estrato córneo, as características selecionadas foram brilho e forma (Figura 34). O estrato córneo precisa ser romboidal e uniforme (BARGO et al., 2013; RAPHAEL et al., 2013), com alto brilho (KAWASAKI et al, 2014; ALARCON et al., 2016) quando seu microrrelevo estiver em boas condições, o que significa uma boa renovação da pele e, conseqüentemente, provavelmente boa função de barreira cutânea. As distâncias do sulco são, geralmente, pequenas. A melhor imagem do estrato córneo é aquela com forma romboidal, pequena distância do sulco, alto brilho e que ainda é possível visualizar corneócitos, ressaltando uma boa textura (LAGARRIQUE et al., 2012; NEWTON et al., 2017; TAN et al., 2016).

Figura 34: Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento no estrato córneo, onde a melhor qualidade significa uma forma rombóide, com pouco espaço entre os sulcos, textura uniforme e alto brilho. Quanto maior a nota atribuída ao critério, maior a qualidade. A parte superior diz respeito ao brilho e a inferior à textura



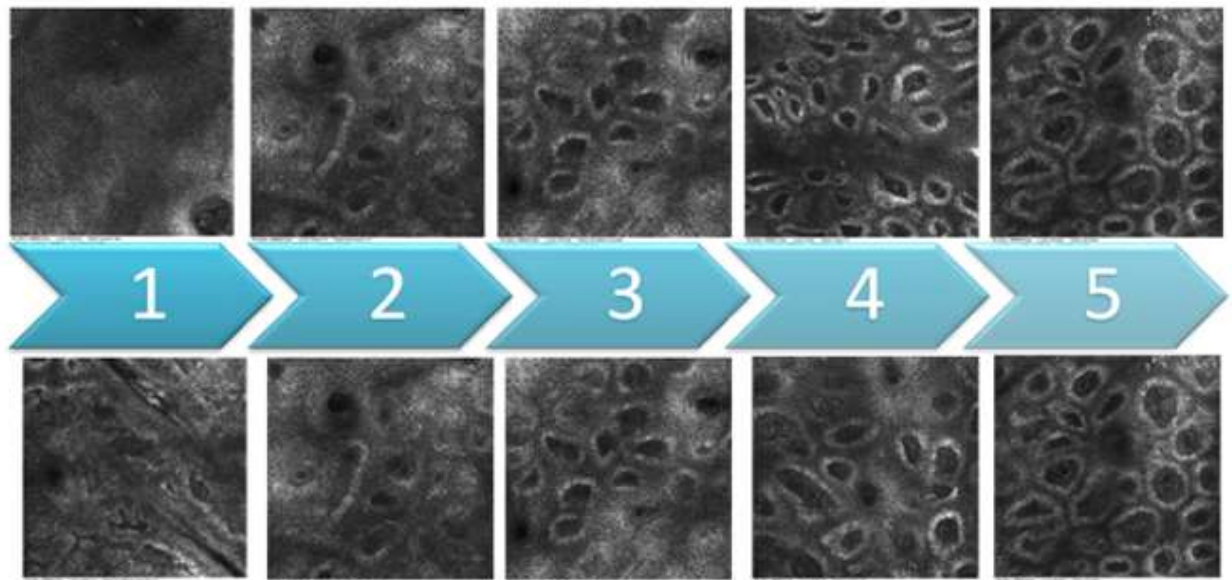
A segunda camada de pele que utilizamos para desenvolver o escore foi o estrato granuloso. Essa camada precisa apresentar os queratinócitos ordenados em favo de mel (BIELFELDT et al, 2011; ASSERIN et al., 2015; HAMES et al., 2016). Além disso, a presença de hiperqueratinização e comedões pode afetar a qualidade e o padrão da pele, além de ser pior pela ação do sol. Além disso, o brilho interqueratinócito e a área celular são fatores importantes nesse contexto. Dessa forma, a melhor camada granular é aquela com queratinócitos se organiza em padrão de favo de mel, alto brilho entre os queratinócitos, sem comedões ou hiperqueratinização (CUCUMEL et al., 2012). O escore de imagens está identificado na figura 35.

Figura 35: Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento no estrato granuloso, onde a melhor qualidade significa uma forma favo-de-mel, com alto brilho interqueratinócitos, sem comedões e com células bem definidas. Quanto maior a nota atribuída ao critério, maior a qualidade. A parte superior diz respeito ao padrão favo-de-mel e a inferior à à formação de comedões



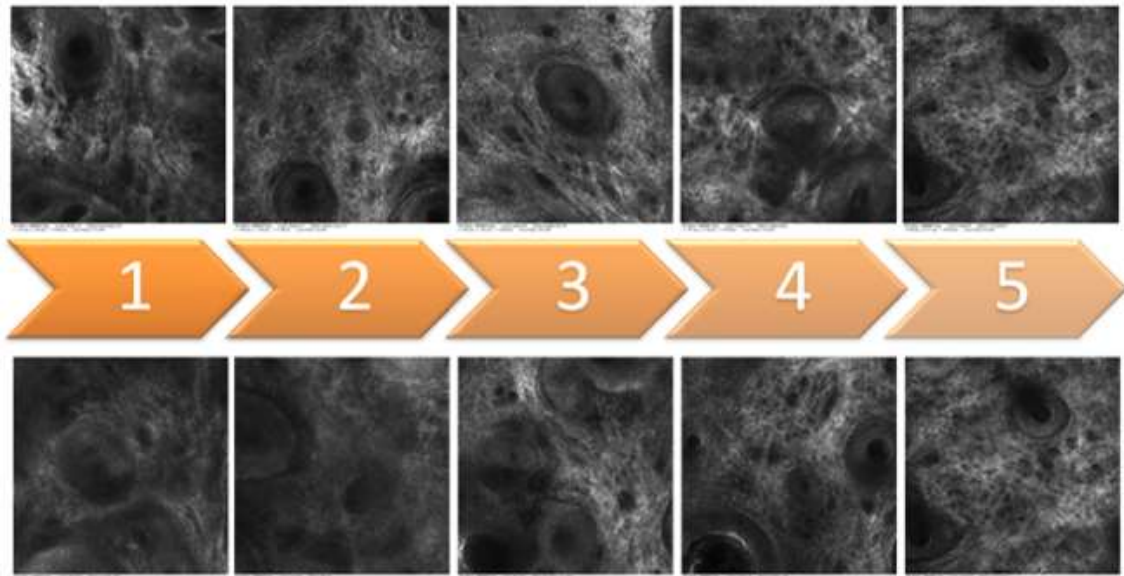
A terceira camada de pele que utilizamos para desenvolver o escore foi a junção dermo-epidérmica, focando na forma e densidade papilar (Figura 36). As papilas são estruturas que permitem melhores trocas entre a epiderme e a derme, dessa forma, uma alta densidade pode ser interessante para a pele sadia (DELSIN et al., 2015; LAGARRIQUE et al, 2012). Além disso, as formas precisam ser circulares ou pouco elípticas (SRIVASTAVA et al., 2020). As papilas perderam a conformação primeiro sendo uma gota e depois podem passar a assumir uma conformação policíclica, indicativo de fotoenvelhecimento e lesão cutânea (LONGO & PELLACANI, 2015). A boa conformação epidérmica dérmica foi considerada como presença de papilas de alta densidade com boa conformação (forma circular) (LONGO et al., 2013; MA et al., 2017).

Figura 36: Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento na junção derme-epiderme, onde a melhor qualidade significa uma alta densidade de papilas, bem definidas e com formas arredondadas. A perda de qualidade das papilas faz com que fiquem em forma de gota, achatadas até chegar à forma de papila policíclica. Quanto maior a nota atribuída ao critério, maior a qualidade. Imagens acima - densidade das papilas; abaixo - alteração no padrão morfológico das papilas.



A quarta camada de pele que utilizamos para desenvolver o escore foi a derme papilar, com foco nas estruturas de colágeno (Figura 37). As estruturas de colágeno precisam apresentar alto brilho, com presença de fibras retas e em boa densidade (POLLEFLIET et al., 2012; LONGO et al., 2013). Com a exposição ao sol as fibras passam a ficar menos presentes e hipo reflexivas, com redução do brilho e então, após um dano significativo, as fibras de colágeno voltam a aumentar a refletância, porém, não são mais retas, mas sim grosseiras, caracterizando o fotodano nas fibras de colágeno.

Figura 37: Escore desenvolvido para avaliar o efeito do fotoenvelhecimento do colágeno na derme superior, onde a melhor qualidade significa fibras bem definidas, retas, não amontoadas e com alta reflectância. A perda de qualidade do colágeno faz com que fique hiporrefletivo e perda qualidade da forma da fibra, podendo-se notar elastose como na primeira imagem superior. qualidade e a inferior à densidade



Aplicamos o score para os 40 participantes e foi possível observar que não há correlação necessária entre a idade do participante e a média obtida com escore de fotoproteção. Entre os 10 primeiros temas, inclusive, participante de 39 anos (Tabela 22). Foi possível observar que os participantes jovens apresentam especialmente as camadas superiores com piores escores, enquanto que os mais velhos apresentam os piores escores nas camadas inferiores. Entretanto, muitos rapazes jovens apresentam, de fato, uma extensão de danos por toda as camadas da epiderme.

Tabela 22: Escore médio obtido das imagens de MCR aplicado aos participantes do estudo na etapa de caracterização (jovens e adultos)

Participante	Fotoproteção	Idade	EC	EG	JDE	Colágeno	Média
V21	SIM	21	8	9	7	7,7	7,92
V01	SIM	23	8,3	7,3	7,3	8,3	7,75
V25	SIM	27	8	8	7	7	7,5
V13	SIM	18	7	8,3	6,7	7,7	7,42
V27	SIM	31	6,7	8,3	7	7,3	7,33
V08	SIM	26	6,7	8,7	6	7,3	7,17
V16	SIM	18	7,3	9	5,7	6,7	7,17
V12	SIM	19	9,3	6,7	7,3	5	7,08
V03	SIM	24	7	8	7,3	5,7	7,00
V34	SIM	33	7,33	8,67	7,33	5	7
V38	SIM	39	7	8	6,5	6,5	7
V20	SIM	20	8,7	7,3	7,7	3,3	6,75
V07	NÃO	19	7,3	8	7	4,3	6,67
V18	SIM*	25	7,3	7	6,3	5,7	6,58
V29	NÃO	36	9,3	6,7	5	4,7	6,42
V22	SIM*	23	7	7	6	5,3	6,33
V28	NÃO	31	9	8	3,7	4,7	6,33
V02	NÃO	25	6,3	6,3	5,7	6,7	6,25
V31	NÃO	40	9	6,7	4,7	4,33	6,17
V23	NÃO	25	7	6,7	5	6	6,17
V04	NÃO	24	7	7,3	5	5	6,08
V15	NÃO	21	8	6,3	5	4,7	6,00
V05	NÃO	22	6,7	7	3	7	5,92

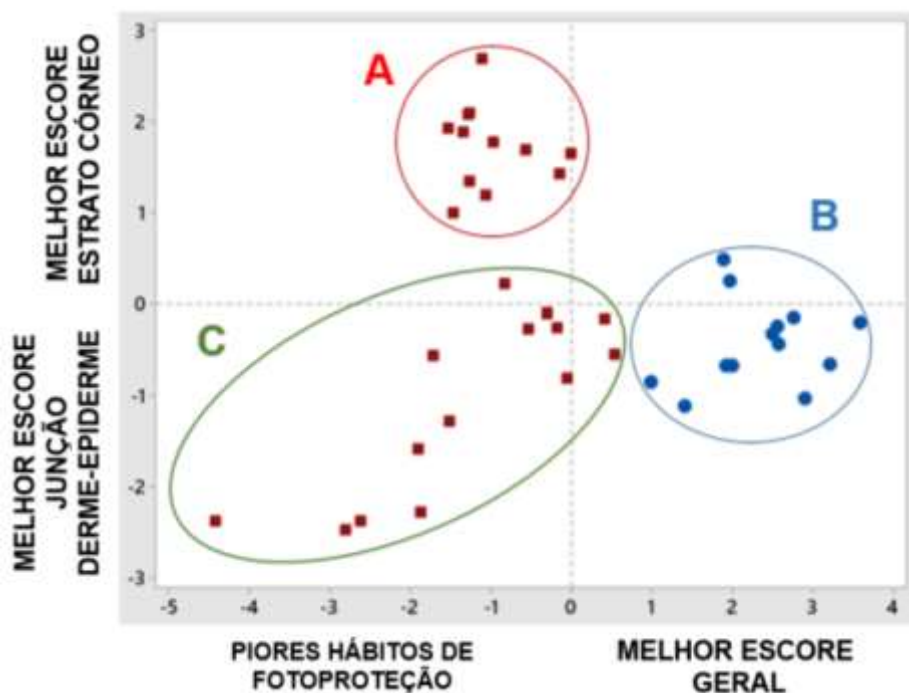
V26	NÃO	41	8,3	6,67	3,3	5	5,83
V33	NÃO	48	7,67	7,67	2	5	5,83
V11	NÃO	27	7	7	4	5	5,7
V39	NÃO	33	7,67	7,33	3,3	4,3	5,65
V37	NÃO	41	7,33	6,7	3,7	4,7	5,6
V30	NÃO	42	7	6,7	5,3	3,3	5,58
V35	NÃO	40	7,67	7,67	2	4,67	5,5
V36	NÃO	38	8	7,67	2	4,3	5,49
V40	NÃO	39	7,33	7,67	2	4,7	5,43
V32	NÃO	41	7,33	7,33	2	4,7	5,33
V24	NÃO	26	4,3	6,3	5	5,3	5,25
V17	NÃO	23	4,7	4,7	7	4,3	5,17
V10	NÃO	22	5,7	7	4	3,7	5,08
V19	NÃO	19	5	6	5	4	5
V09	NÃO	23	4,3	4	6,3	3,7	4,6
V06	NÃO	20	4	4	4	6	4,5
V14	NÃO	21	2,7	4,7	3,7	2,3	3,33

EC= estrato córneo; EG=estrato granuloso; JED= Junção derme-epiderme; * significa participante que aplica fotoprotetor ocasionalmente.

Colocando hábitos, idade e escores, obtivemos a ACP que apresentou acúmulo de 77,59% até o segundo componente, evidenciando que a correlação é forte e é possível utilizar este tipo de análise estatística em nosso estudo. O primeiro componente (eixo x) apresentou valores positivos correlacionados com melhor escore médio e valores negativos com piores hábitos de fotoproteção. Para o segundo componente (eixo Y), os valores positivos se correlacionam com maiores idades e melhor escore do estrato córneo, para valores negativos, melhores condições da junção dermoepidérmica. É possível observar três acumulações neste estudo, uma representada pela letra A na figura 35 e outra representada pela letra B no mesmo gráfico. A letra A representa os participantes com mais de 30 anos sem hábitos de fotoproteção, é possível observar que eles também apresentam melhores pontuações no estrato córneo. Para o acúmulo B, representa os participantes com hábitos de fotoproteção, independente da idade.

Esses participantes estão mais próximos de um melhor escore médio. Os participantes mais jovens sem hábitos de fotoproteção apresentaram-se mais dispersos no diagrama (região C), mas todos na parte negativa do segundo componente, o que representa pior avaliação do estrato córneo e camada granular (Figura 38).

Figura 38: Análise PCA da aplicação de pontuação em relação à idade e hábitos de fotoproteção. A região A representa os participantes mais velhos sem hábitos de fotoproteção, a região B diz respeito aos participantes, independentemente da idade, com hábitos de fotoproteção e as regiões C correspondem aos participantes mais jovens sem hábitos de fotoproteção

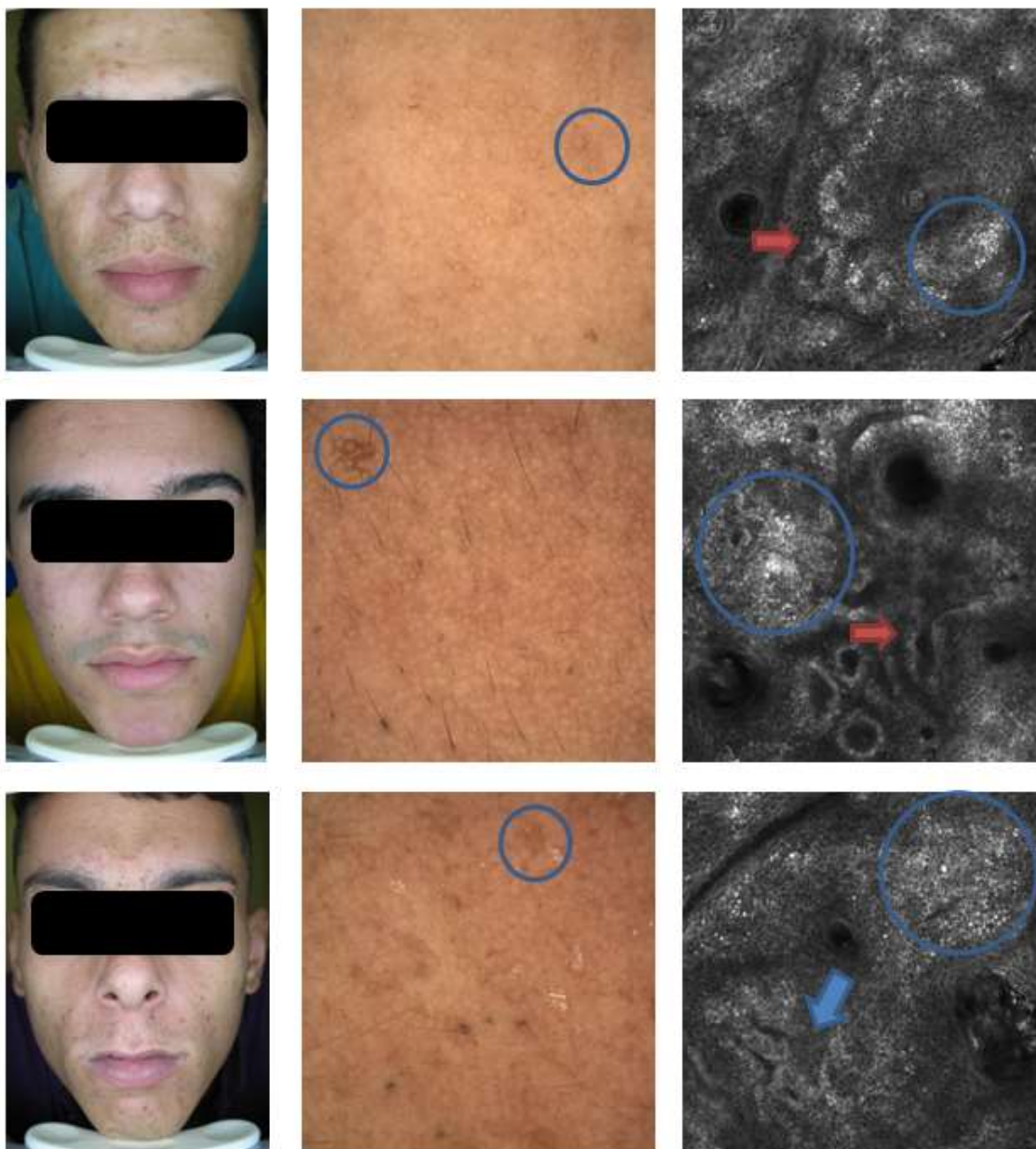


Para a construção do escore não levamos em consideração as melanoses pois cada uma delas tem características particulares. Muitos dos jovens apresentaram alterações no padrão de pigmentação. Hiperpigmentação pós-inflamatória e efélides foram encontradas também em participantes com hábitos de fotoproteção. Melasma, entretanto, foi encontrado apenas nos participantes que não aplicam fotoprotetor. A extensão de danos visuais não apresenta necessariamente uma correlação com a extensão de danos morfológicos para os participantes com melasma (Figura 39). Um dos rapazes, com melasma mais visível, apresentava menos infiltrado inflamatória na JDE.

A presença de lentigo solar foi encontrado apenas em dois participantes do grupo mais velho e sem hábitos de fotoproteção. Na MCR foi possível observar a presença de região mosqueada, típica desse tipo de melanose. Para as hiperpigmentações pós-inflamatórias

observamos principalmente a presença de aumento de brilho nas papilas, devido ao aumento de deposição de melanina nessa camada da pele.

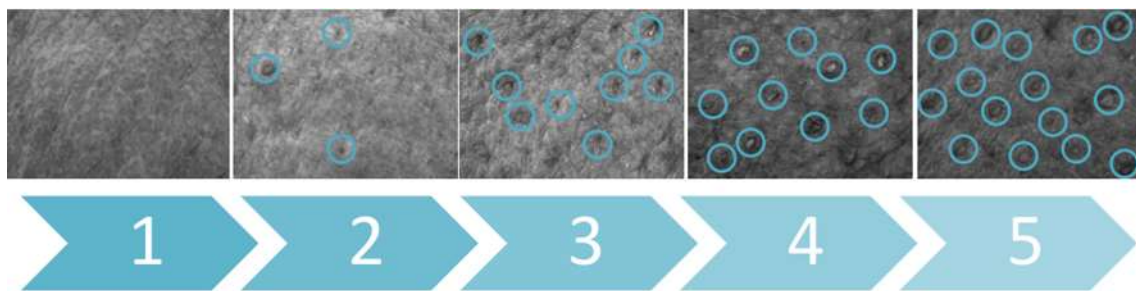
Figura 39: Casos de melasma encontrados na caracterização dos participantes do estudo. Os círculos azuis representam os aglomerados de pigmentação, bem como de infiltrado inflamatório pela MCR. As setas azuis indicam papilas policíclicas e as setas vermelhas indicam papilas que estão em processo de perda de forma



8.4.4. CARACTERIZAÇÃO DA PELE OLEOSA COM TENDÊNCIA À COMEDÕES

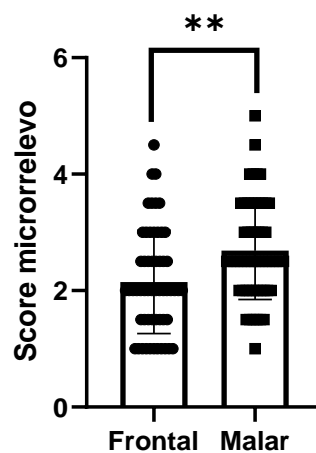
Usando as imagens de micro relevo do dispositivo Visioscan foi obtida a pontuação para a avaliação de comedões (Figura 40). As imagens foram analisadas e um escore foi criado considerando os parâmetros: presença de comedões, quantidade, tamanho e se estavam abertos ou não. Esta última característica foi fundamental porque esta é a principal limitação das imagens de alta resolução: é difícil determinar a presença de comedões fechados nas imagens de alta resolução do rosto.

Figura 40: Pontuação dos comedões pela análise do micro relevo cutâneo (VisioScan®), onde 1 significa menor quantidade e 5 maior densidade de comedões



Para essa metodologia analisamos em triplicata cada um dos participantes. Foi observada uma diferença significativa entre as regiões da face, sendo a malar com maior escore ($p=0,0012$) (Figura 41).

Figura 41: Score de micro relevo para a avaliação de comedões de acordo com a região e a distribuição. (**) significa $0,001 < p < 0,05$



Com a utilização da MCR os folículos saudáveis foram analisados para uma maior compreensão de suas características morfológicas e estruturais. No folículo saudável, não observamos diferenças em relação à região frontal e malar de acordo com o seu formato. Mesmo em relação às lesões, não observamos diferenças significativas entre as regiões. Desta forma, analisamos o número total de folículos saudáveis para observar como é a forma folicular saudável e comparar posteriormente com as lesões e entender como os tipos de lesão podem alterá-la. As áreas no estrato córneo ($3611 \pm 164 \mu\text{m}^2$) e estrato granuloso ($3044 \pm 204 \mu\text{m}^2$) não apresentaram diferenças, de fato, são semelhantes. No entanto, observamos uma diferença significativa comparando a área da derme papilar com as demais ($10196 \pm 404 \mu\text{m}^2$), mostrando um alargamento nas camadas mais profundas da pele.

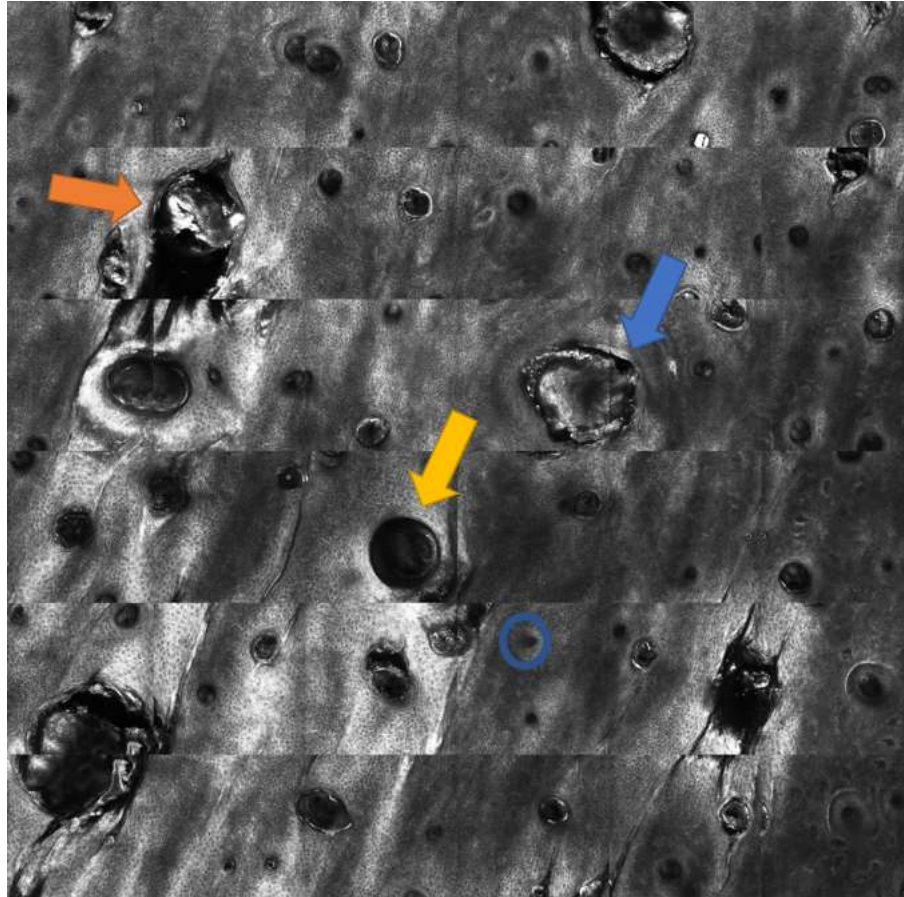
Neste estudo ambas as regiões, malar e frontal, apresentaram número de lesões semelhante de acordo com a classificação (forma regular, dismórfica e presença de ácaros) (Tabela 23). As classificações foram feitas de acordo com a forma e o processo de hiperqueratinização observado na região folicular pelo aumento do brilho na área ao redor do folículo (Figura 40). O formato circular foi classificado como regular e o ausente dessa forma – mais ovalado - foi classificado como dismórfico independente da área folicular.

Tabela 23: Número absoluto de tipos de lesões de acordo com a região facial

	Número de comedões	Saudável	Dismórfico	Ácaros	Formato da borda		
					Borda fina	Borda grossa	Sem borda
Frontal	90	20	10	5	28	16	11
Malar	90	20	12	5	25	13	15
Total	180	40	24	10	53	29	26

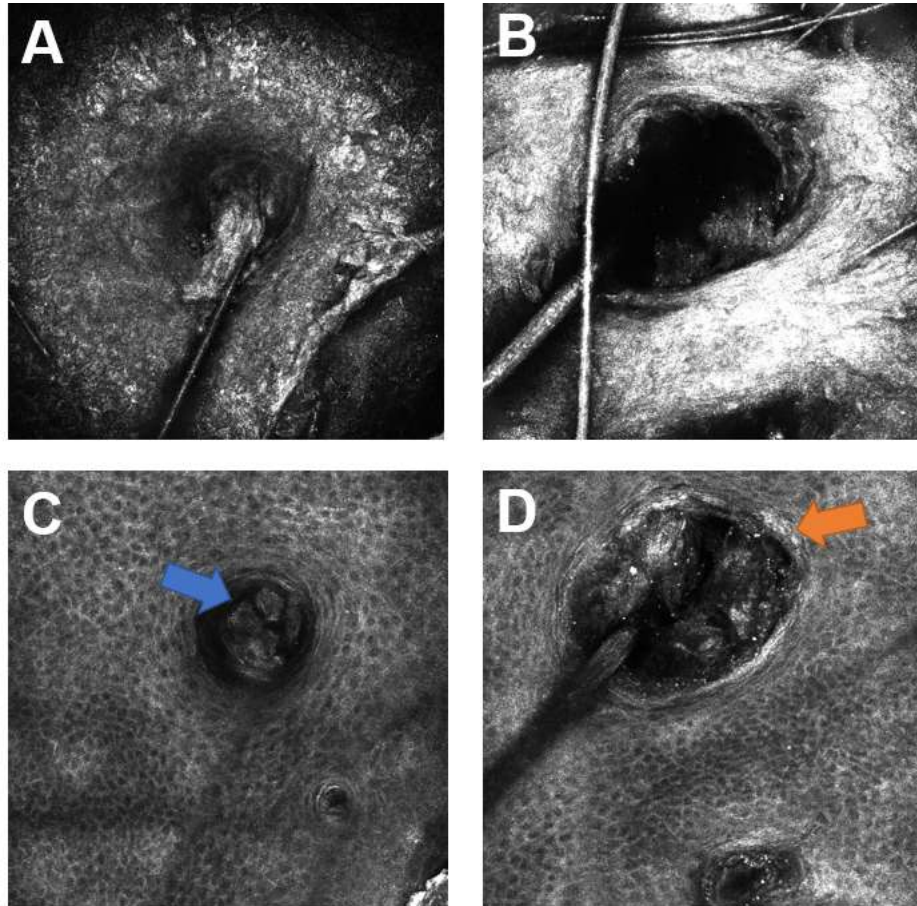
Foi possível observar um predomínio de formas regulares nas duas regiões, porém, mesmo quando regulares, foi possível encontrar diferentes espessuras de bordas de acordo com o processo de hiperqueratinização folicular (Figura 42). Neste estudo comparamos os resultados principalmente entre o folículo saudável com o dismórfico e os comedões de formato regular de borda espessa, uma vez que essas lesões foram mais prevalentes e representam os piores resultados.

Figura 42: VivaBlock de uma região malar mostrando várias morfologias de comedões em um mesmo participante. A seta azul indica um comedão com forma circular, conteúdo amorfo e borda de hiperqueratinização grossa (brilho). A seta amarela indica um comedão sem hiperqueratinização, com pouco conteúdo amorfo no interior. A seta laranja indica uma lesão dismórfica, com queratinócitos esfoliativos na borda, hiperqueratinização e conteúdo amorfo. O círculo azul indica um folículo saudável, ainda sem processo de hiperqueratinização



A determinação de comedão causado por ácaro é diferente daquela em que há conteúdo amorfo. Os ácaros apresentam-se como círculos delimitados dentro da região folicular. A superfície é menos larga e muitas vezes não há o processo de hiperqueratinização das bordas do folículo (Figura 43). Foram observados comedões com ácaros também nos participantes mais velhos.

Figura 43: Imagens de MCR para comedões causados por presença de ácaros (A,C) ou por acúmulo de material amorfo (B,D) nas camadas estrato córneo (A,B) e estrato espinhoso (C,D). A seta azul indica os círculos bem delimitados que representam os ácaros e a seta laranja aponta a hiperqueratinização do folículo



Em relação às lesões de borda espessa, foi possível observar, além do processo de hiperqueratinização, a presença de queratinócitos esfoliativos nas lesões. Além disso, no estrato córneo, é possível observar a presença de acúmulo de corneócitos na região folicular.

Os comedões com formato dismórfico apresentam hiperqueratinização, porém, em sua maioria, foram causadas por agregação de mais de uma área folicular. Além disso, é possível observar um excesso de material amorfo no interior da lesão. Nos comedões de formato regular com borda espessa, a presença de material amorfo no interior do folículo é notável, porém, nos dismórficos é ainda mais pronunciada.

As alterações foliculares causadas pelos comedões com formato dismórfico e borda espessa regular são mais pronunciadas. Dessa forma, analisamos o formato dessas lesões de acordo com as regiões, não apresentando diferenças significativas. Para a borda espessa regular, observamos a mesma tendência observada para o folículo sadio, porém com valores maiores e

alargamento do estrato córneo e derme superior. Para os comedões dismórficos não observamos diferenças nas áreas nas três profundidades, porém quando comparamos com as de borda espessa e o folículo saudável, todas as áreas apresentaram diferença significativa (Figura 44). Foi possível observar que os resultados para o folículo saudável se apresentaram como mais constantes, enquanto as lesões dismórficas apresentaram uma grande variação entre os resultados.

De fato, para uma melhor compreensão da alteração da forma folicular de acordo com cada lesão, calculamos uma razão entre as regiões. No folículo sadio observamos uma alta relação entre as áreas da derme superior (DS) e do estrato córneo (EC) e o mesmo para o estrato granuloso (EG) e uma relação próxima a 1 entre as áreas de EC e EG. Na lesão regular com borda espessa observamos uma redução nas razões de acordo com a área DS, ou seja, as áreas no EC e EG aumentaram mais proporcionalmente, principalmente no EC, uma vez que a relação entre EC e EG também aumentou. Para os comedões dismórficos, observou-se aumento em todas as áreas e alteração da forma final do comedão (Figura 45).

Figura 44: Áreas foliculares de acordo com as regiões e o tipo de comedão, onde EC significa estrato córneo, estrato granuloso EG e derme superior DS. (***) representa $p < 0,001$. # representa uma diferença significativa entre as áreas de lesão dismórfica e todos os outros resultados apresentados no gráfico

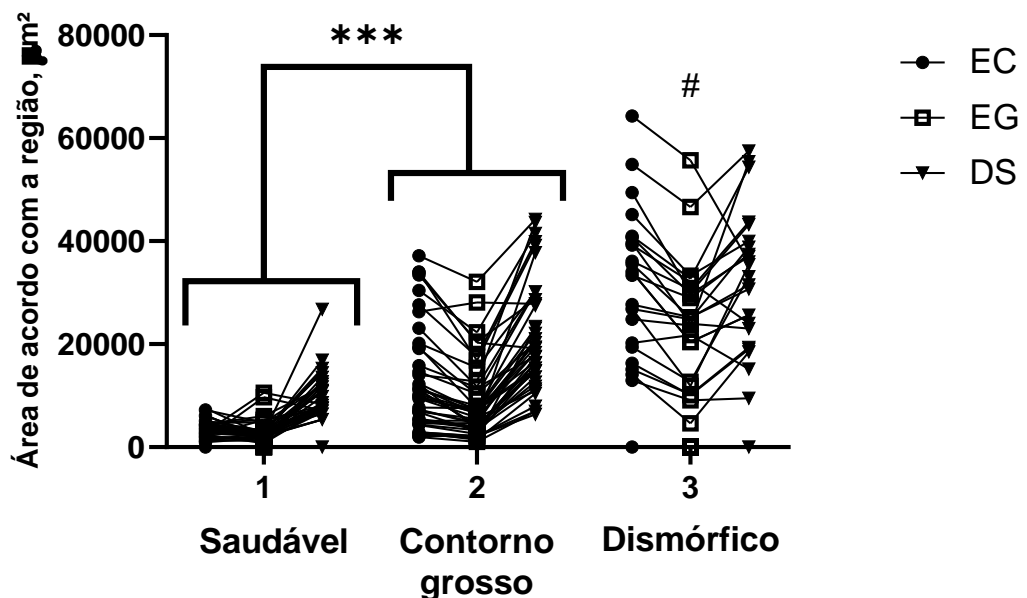
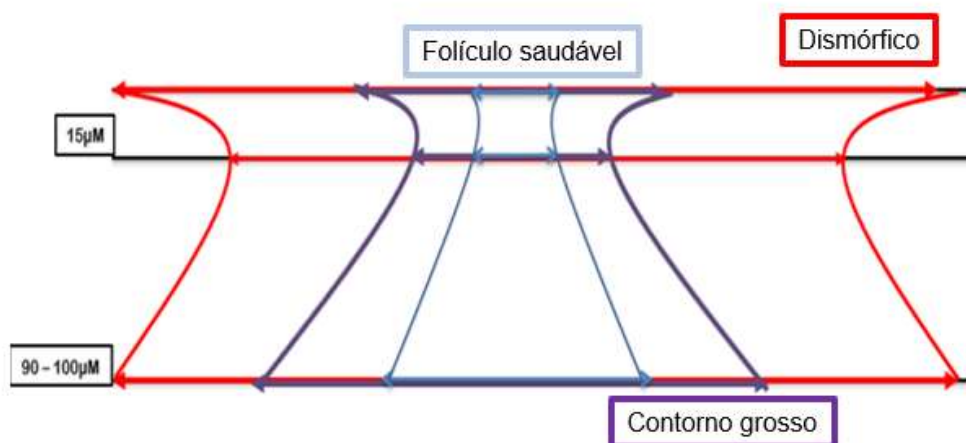


Figura 45: Representação esquemática do folículo saudável e dos comedões analisados neste estudo. A imagem gráfica é representativa de acordo com os valores proporcionais obtidos nas relações entre EC, EG e DS. É possível observar que o processo de hiperqueratinização representado pelo comedão de contorno grosso é capaz de aumentar a área folicular proporcionalmente, mas quando se torna dismórfico, essa razão não é mantida.



Dessa forma, é possível utilizar as imagens de contorno grosso para avaliar uma redução na hiperqueratinização e os dismórficos para a avaliação da gravidade do quadro de formação de comedão em pele oleosa, podendo ser aplicado na próxima etapa, de eficácia clínica.

8.4.5. EFICÁCIA CLÍNICA

Nesse estudo avaliamos a utilização de óleos essenciais em combinação, a nanoemulsão de melaleuca, o óleo essencial de melaleuca e as combinações 3OE e 4OE em um estudo duplo-cego e placebo-controle. Os cosméticos foram aplicados em uma quantidade padronizada de 1mL através do sistema pump das embalagens. As formulações foram aplicadas durante a noite e durante o dia os participantes utilizaram a formulação fotoprotetora F2.

Quinze dias antes do início do uso dos produtos noturno todos os participantes pararam de utilizar qualquer cosmético para o cuidado com a pele e começaram a aplicar somente a formulação F2. Os participantes que desistiram do estudo pararam nessa etapa, bem no início. O primeiro resultado que será apresentado diz respeito à utilização de fotoprotetor por 15 dias (wash-out).

A primeira etapa desse estudo consistiu na padronização, por 15 dias, de todos os voluntários utilizando apenas fotoprotetor. Esse passo foi crucial para o início da avaliação clínica com óleos essenciais porque os participantes apresentavam uma grande heterogeneidade de resultados de acordo com os resultados apresentados na caracterização. Mesmo que nem

todos os participantes da fase de caracterização sejam os mesmos da fase clínica, a ausência de uso de produtos cosméticos, especialmente o fotoprotetor, continuou em torno de 60%. Para essa avaliação utilizou-se a medida de eritema do aparelho mexameter e um escore de eritema utilizando imagens de alta resolução.

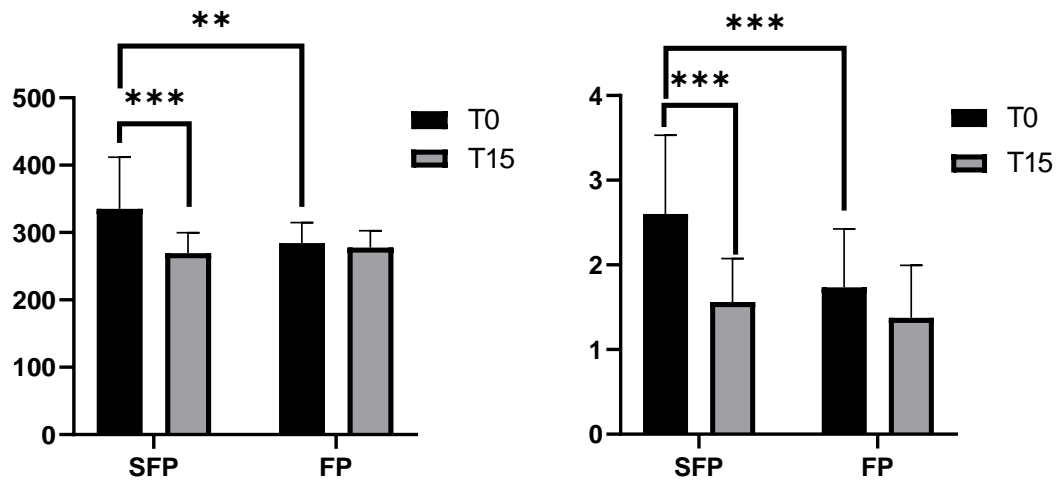
Pode-se observar que o grupo sem hábitos de fotoproteção (SFP) apresentou valores significativamente maiores para as medidas de eritema se comparado com o grupo de fotoproteção no tempo inicial ($p=0,002$). Entretanto, após 15 dias de utilização de fotoprotetor, vemos uma redução significativa no eritema facial ($p<0,001$). Foi observado um panorama parecido aplicando o escore de eritema (Figura 46) das imagens de alta resolução (Figura 47). Aplicando a correlação de Pearson foi possível observar um valor de correlação alto entre as duas técnicas ($r=0.8657$). Não foram encontradas alterações, entretanto, em características morfológicas e estruturais utilizando RCM.

Figura 46: Escore de eritema de acordo com os participantes do estudo clínico



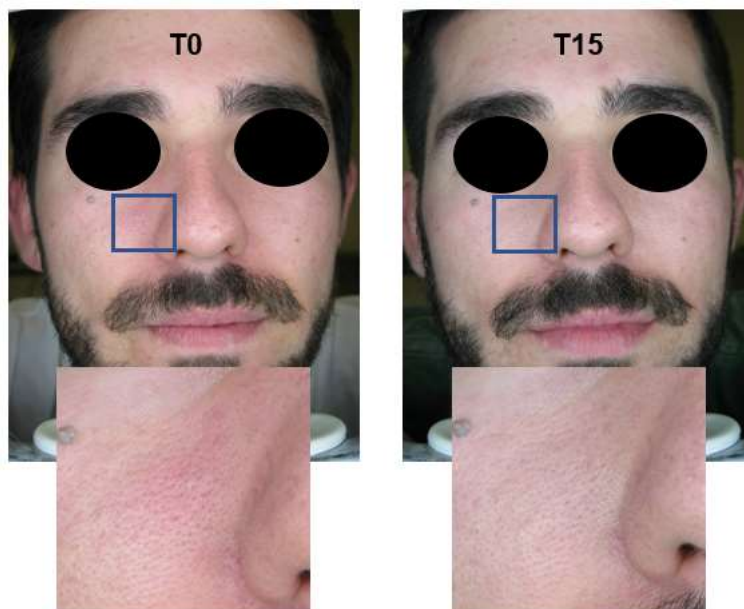
Figura 47: Avaliação do eritema (A) na região malar e utilização de escore de avaliação do eritema (B) de acordo com imagens de alta resolução entre os grupos sem hábitos de proteção

solar (SFP) e o grupo com hábitos de proteção solar (FP). Onde (**) significa $0,001 < p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$



De fato, foi perceptível que a utilização de fotoprotetor por aqueles que não tinham esse hábito reduziu visivelmente o eritema, mesmo que durante apenas 15 dias (Figura 48).

Figura 48: Participante do estudo clínico que alegou não utilizar fotoprotetor regularmente no início do estudo (T0) e após 15 dias de aplicação de protetor solar diariamente (T15). É possível notar a redução de eritema em toda a face, especialmente na região malar

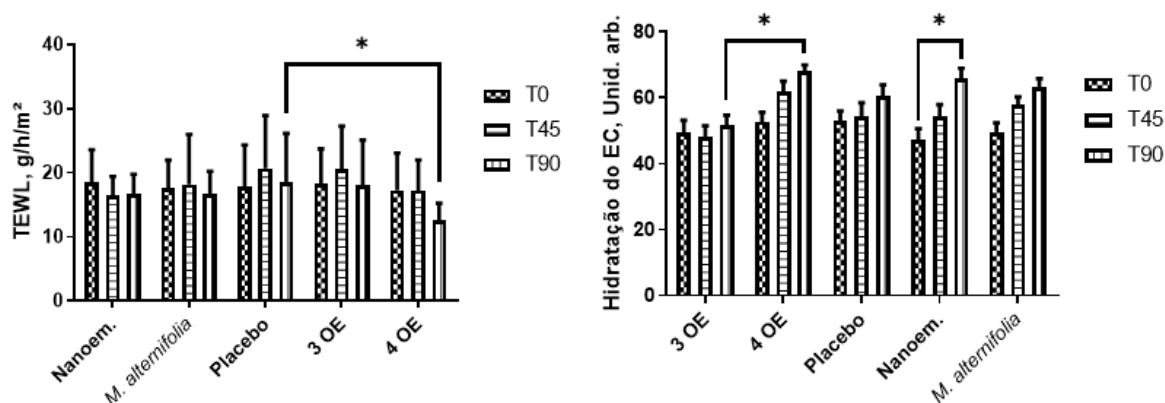


Após essa etapa, foi possível obter os valores basais do estudo, passando para a etapa de eficácia clínica das formulações com óleos essenciais.

Os resultados à partir daqui tem relação com a eficácia clínica de cosméticos desenvolvidos com óleos essenciais após o wash-out.

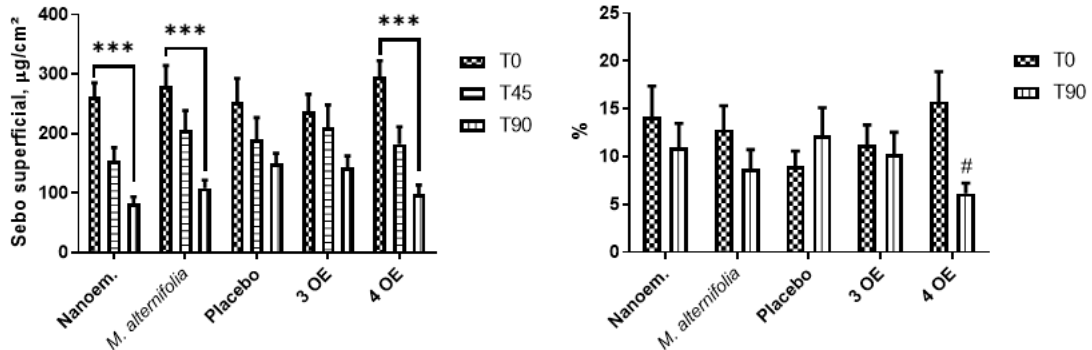
Foi possível observar que a formulação com 4 óleos essenciais apresentou uma diminuição da perda transepidérmica de água após 90 dias de uso da formulação ($p=0,03$). Além disso, foi possível ver um aumento nos parâmetros da hidratação do estrato córneo para esse grupo em comparação ao grupo com três óleos essenciais ($p=0,03$). A formulação com nanoemulsão apresentou um aumento na hidratação do estrato córneo, mas sem diminuição da TEWL ($p=0,012$) (Figura 49).

Figura 49: Parâmetros de hidratação da pele (B) e TEWL (A) de diferentes grupos e tempos de tratamento (em dias), onde é possível observar que a formulação com quatro óleos essenciais (4OE) apresentou a principal melhora na TEWL e na hidratação do estrato córneo; onde (*) $0,01 < p < 0,05$



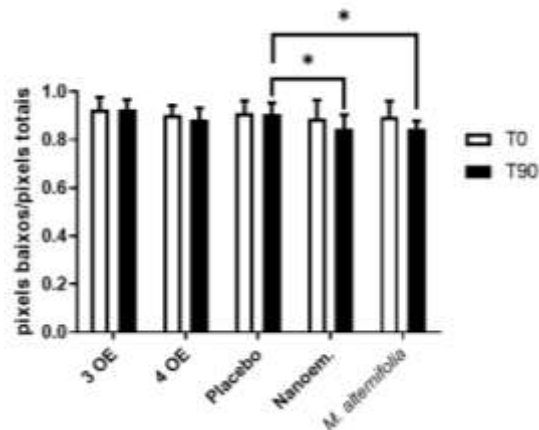
Com relação aos parâmetros de oleosidade podemos observar que todas as formulações apresentaram uma tendência na redução do sebo superficial, mas foi considerada significativa apenas para as formulações que apresentaram melaleuca em sua composição, seja livre, em associação ou em nanoemulsão ($p < 0,001$), sendo que a formulação com 4 óleos essenciais apresentou também uma tendência de redução no sebo no infundíbulo ($p=0,07$) (Figura 50).

Figura 50: Nível de sebo superficial (A) e conteúdo de sebo do infundíbulo (B), de diferentes grupos de tratamento e tempos (em dias); onde (***) $p < 0,001$ e # uma tendência na redução com $p = 0,07$ comparando com o tempo inicial



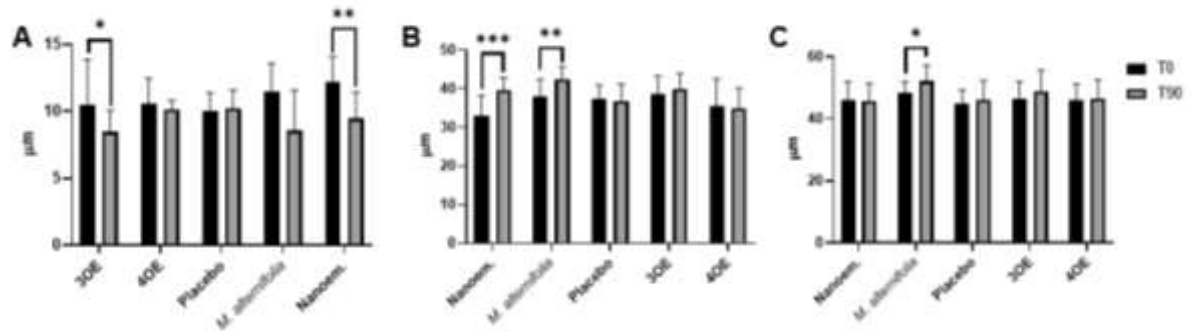
Para os grupos de nanoemulsão e *M. alternifolia* foi observada uma redução na relação de ecogenicidade, estando correlacionado com melhora da rede de colágeno (Figura 51).

Figura 51: Ecogenicidade da derme com a relação entre pixels de baixa ecogenicidade e pixels totais para os grupos de estudo de acordo com o tempo (em dia), onde (*) significa $p < 0,05$



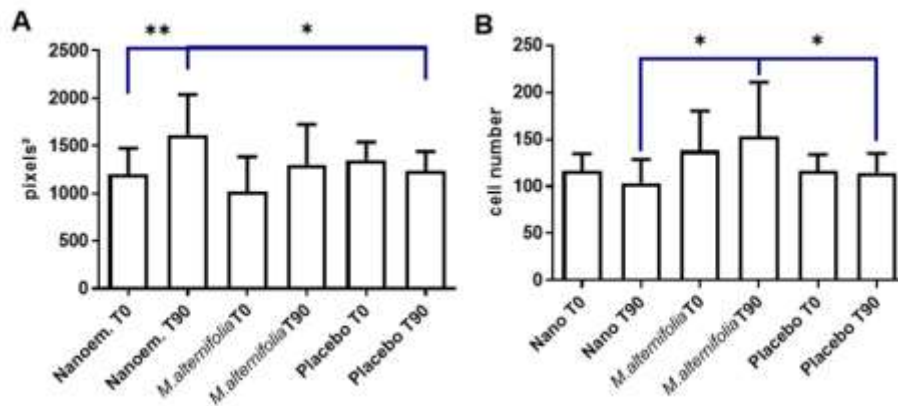
Com relação ao estrato córneo foi observada uma redução na espessura para os grupos com 3 óleos essenciais em combinação ($p = 0,04$) e para o grupo de nanoemulsão ($p = 0,002$). A profundidade das papilas foi aumentada para os grupos de nanoemulsão ($p < 0,001$) e com o uso do óleo de melaleuca ($p = 0,003$). Além disso, com relação à espessura média da epiderme, vemos um aumento significativo para o grupo que fez o uso do óleo de melaleuca ($p = 0,03$). (Figura 52).

Figura 52: Resultados referentes à espessura das diferentes camadas da epiderme utilizando MCR. O uso de nanoemulsão reduziu a espessura do estrato córneo (A) e aumentou a profundidade das papilas (B). O uso de 3 óleos em combinação reduziu a espessura da epiderme e o uso de óleo de melaleuca puro aumentou a profundidade das papilas e a espessura da epiderme média (C). Onde (*) $0,01 < p < 0,05$; (**) $0,001 < p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$



Para as formulações com nanoemulsão e *M. alternifolia* – as que mais apresentaram resultados para mudanças nas espessuras da epiderme – foram realizadas as medidas de área de queratinócitos do estrato granuloso e número médio de células. Para a nanoemulsão foi observado um aumento na área dos queratinócitos da camada granulosa, tanto após 90 dias como também em comparação com o efeito observado para o placebo. Para a formulação com óleo de melaleuca um pequeno aumento foi observado, porém não considerado significativo. Panorama semelhante foi observado em relação ao número médio de células para o grupo que utilizou óleo de melaleuca. Comparando com os grupos de nanoemulsão e placebo foi possível observar que o grupo que utilizou o óleo de melaleuca apresentou um número superior na quantidade de células da camada granulosa (Figura 53).

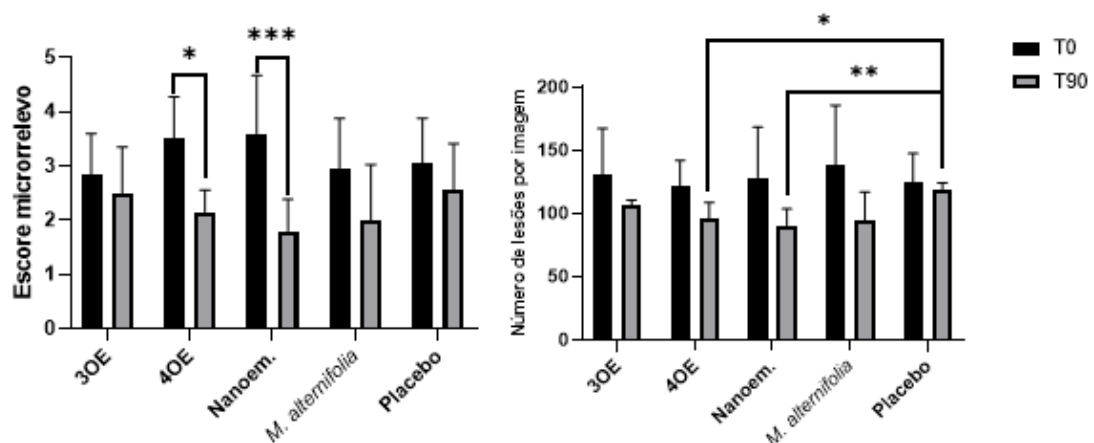
Figura 53: Área dos queratinócitos (A) e número médio de células (B) da camada granulosa para os grupos que utilizaram óleo de melaleuca, nanoemulsão e veículo. Onde (*) $0,01 < p < 0,05$; (**) $0,001 < p < 0,01$



Com relação ao estudo de eficácia para a redução de comedões utilizando óleos essenciais, foram utilizadas as técnicas de micro relevo, dermatoscopia e MCR para contagem de lesões, scores e avaliação das características morfológicas e estruturais. Já observamos que houve redução na oleosidade da pele, então a avaliação dos comedões é imprescindível para melhor compreensão da eficácia.

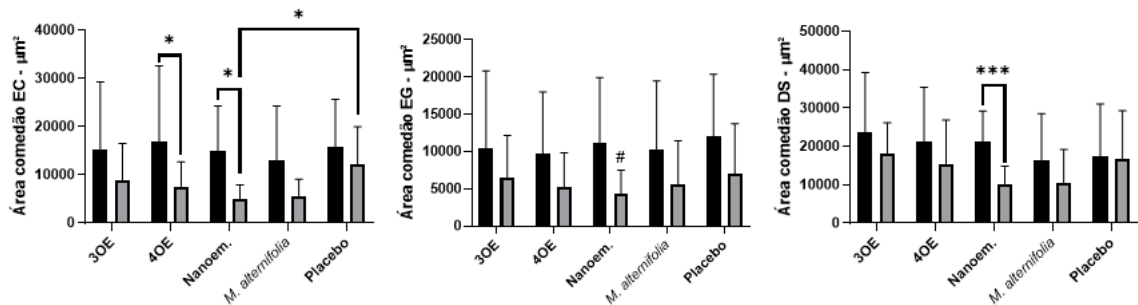
Com relação ao escore de micro relevo observamos a redução de lesões para os grupos de quatro óleos essenciais e nano emulsão após 90 dias, mas não com relação ao placebo. Com relação à dermatoscopia, observamos redução no número de lesões para os mesmos grupos, porém com relação ao placebo (Figure 54).

Figura 54: Escore de micro relevo e número de lesões por imagem de dermatoscopia de acordo com cada tratamento e com o tempo de uso (T0 x T90) em dias. Onde (*) significa $p < 0,05$; (**) $0,001 < p < 0,05$ e (***) $p < 0,001$



Quando foram analisadas as lesões não inflamatórias com relação às áreas que elas ocupam nas camadas da epiderme pudemos observar que para a camada mais superficial há redução significativa para os grupos 4OE e de nanoemulsão. Entretanto, apenas o grupo com nanoemulsão apresentou uma diferença significativa com relação ao placebo. Para a área no estrato granuloso há uma tendência de redução para o grupo de nanoemulsão ($p=0,056$) e para a região da derme papilar, há redução significativa para o grupo de nanoemulsão ($p<0,001$) (Figura 55).

Figura 55: Áreas dos comedões de acordo com as regiões de estudo, estrato córneo (EC), estrato granuloso (EG) e derme superior (DS) antes e após o tratamento. Onde (*) significa $p<0,05$; (***) $p<0,001$ e # uma tendência com $p=0,056$



Com relação às características morfológicas e estruturais analisadas com a ajuda da MCR, foi possível observar principal ação dos grupos 4OE, nanoemulsão e melaleuca. Para esses grupos observou-se redução significativa nas lesões dismórficas, com redução das lesões com contorno grosso, reduzindo também a quantidade de material amorfo (Tabela 24).

Tabela 24: Avaliação das características morfológicas e estruturais das lesões de acne não-inflamatória de acordo com os grupos de tratamento e o tempo. Os resultados são apresentados em valores relativos ao total (porcentagem)

Grupos	Shape		Ausência		Contorno		Contorno		Contorno		Conteúdo		Conteúdo	
	Regular (%)		Dismórfico (%)		Sem comedão (%)		Contorno fino (%)		Contorno grosso (%)		Oco (%)		Amorfo interno (%)	
	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90
3OE	61	61	39	17	-	22	28	61	72	17	-	6	100	72
4OE	61	67	39	-	-	33	11	44	89	23	-	28	100	50
Nanoem.	61	78	39	-	-	22	33	56	67	22	-	17	100	61
Melaleuca	61	72	30	6	-	22	28	56	72	22	6	22	94	56
Placebo	67	56	33	33	-	11	17	17	83	72	18	18	82	78

Com a utilização do score desenvolvido para a avaliação do fotoenvelhecimento, as imagens obtidas foram avaliadas para a quantificação no processo de melhora estrutural de acordo com a combinação de hábitos de fotoproteção + tratamento com óleos essenciais. É possível observar que os principais resultados de eficácia foram observados na região malar. Para o estrato córneo, os melhores resultados foram observados para os grupos 4OE e Nanoemulsão (Tabela 25).

Tabela 25: Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para o estrato córneo de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)

	Frontal				Malar			
	Brilho		Textura		Brilho		Textura	
	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90
3OE	3.5±0.7	3.4±0.6	2.6±1.4	3.1±1.0	3.4±1.1	3.2±1.1	2.5±1.4	3.2±0.9*
4OE	3.0±0.4	3.5±0.4	2.5±0.9	3.6±0.5***	3.1±0.9	4.0±0.8*	2.6±1.1	3.9±0.8^a
Nano	3.6±1.0	3.7±0.6	2.9±1.2	3.9±0.8*	3.5±0.7	3.9±0.6	2.7±1.1	4.1±0.6^c
Melaleuca	3.3±0.8	3.7±0.7	2.9±1.0	3.6±0.9	3.1±1.2	3.6±0.5	2.6±1.0	3.8±0.9**
Placebo	3.3±0.7	3.1±0.4	3.0±0.8	3.7±0.6	3.6±1.3	3.5±1.2	2.9±1.2	2.7±1.0

*p<0,05; **0,001<p<0,01***p<0,001 em relação ao tempo inicial; ^ap<0,05; ^cp<0,001 em relação ao grupo placebo

Para o estrato granuloso, os melhores resultados foram observados para os grupos 4OE e Nanoemulsão (Tabela 26), especialmente para a melhor estruturação do padrão favo-de-mel. Entretanto, foram observados resultados satisfatórios também para o grupo com 3 OE, com melhoras perceptíveis na camada granulosa, onde houve redução dos comedões e melhora do padrão favo-de-mel de organização dos queratinócitos. O grupo com óleo puro de melaleuca apresentou uma discreta melhora nos comedões após 90 dias.

Tabela 26: Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para o estrato granuloso de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)

	Frontal				Malar			
	Favo de Mel		Área celular		Favo de Mel		Área celular	
	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90
3OE	3.1±0.8	3.7±1.1	2.8±1.3	3.1±1.0	2.7±1.2	3.9±1.3*	2.5±1.1	3.7±0.8**
4OE	3.1±0.9	3.9±0.8**	2.7±0.8	3.3±0.7	2.9±1.4	4.3±0.7^a	2.8±0.9	3.9±0.7**
Nano	3.4±1.0	4.7±0.3^c	3.0±1.0	4.3±0.7^a	3.3±0.7	4.4±0.6^a	3.1±0.9	4.0±0.7**
Melaleuca	2.7±1.6	3.4±1.2	3.1±1.2	3.7±1.0	3.5±1.3	3.8±1.3	3.1±0.7	3.9±0.9*
Placebo	2.9±0.3	3.5±0.9	3.0±1.1	3.5±0.8	3.5±0.7	3.5±1.4	3.3±0.8	3.6±0.8

*p<0,05; **0,001<p<0,01em relação ao tempo inicial; ^ap<0,05; ^cp<0,001 em relação ao grupo placebo

A formulação com óleo essencial de melaleuca apresentou melhora comparando com o placebo nas regiões de junção derme-epiderme e no colágeno da derme superior (Tabelas 27 e 28).

Tabela 27: Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para a junção derme-epiderme de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)

	Frontal				Malar			
	Qualidade		Densidade		Qualidade		Densidade	
	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90
3OE	2.9±0.9	3.0±0.8	2.6±0.9	2.7±0.8	2.5±1.4	2.7±0.9	2.3±1.1	3.0±1.1
4OE	2.3±0.6	2.3±0.8	2.4±0.5	3.1±0.7	2.2±1.0	2.4±1.1	2.5±0.5	3.1±0.7**
Nano	2.9±1.2	3.4±1.2	2.5±1.2	3.5±1.2*	2.5±1.1	2.9±1.2	2.7±0.8	3.1±0.5
Melaleuca	3.0±1.1	3.7±1.3	3.0±0.9	3.7±0.7	2.8±1.1	3.5±0.7*	2.9±0.7	3.9±0.6^b
Placebo	3.1±1.0	3.2±0.9	3.0±0.8	3.3±0.7	2.9±1.1	3.5±1.0	2.7±0.5	2.8±0.7

*p<0,05; **0,001<p<0,01em relação ao tempo inicial; ^b0,001<p<0,01em relação ao grupo placebo

As formulações 4OE, nanoemulsão e *M. Alternifolia* apresentaram os melhores resultados quando comparados com o placebo. Para a formulação de 4OE é possível observar melhora na textura do estrato córneo e no padrão favo-de-mel em relação ao placebo. Para a

nanoemulsão o mesmo panorama é observado, porém com um bom resultado em ambas as regiões de estudo após 90 dias para o colágeno da derme papilar (Tabela 28).

Tabela 28: Aplicação do escore de fotoenvelhecimento para o colágeno de acordo com os grupos de estudo, no tempo inicial (T0) e após 90 dias (T90)

	Frontal				Malar			
	Qualidade		Densidade		Qualidade		Densidade	
	T0	T90	T0	T90	T0	T90	T0	T90
3OE	2.5±0.8	2.9±0.6	2.9±1.0	2.9±0.9	2.0±0.4	2.9±1.1*	2.4±0.8	3.0±0.7*
4OE	2.3±0.5	3.8±0.9**	2.9±0.8	3.6±0.7	2.2±1.0	3.4±1.3***	2.7±1.2	3.6±1.1*
Nano	2.5±0.6	3.5±0.9*	2.5±0.6	3.7±0.9**	2.1±0.6	3.2±0.9**	2.5±0.8	3.5±1.0***
Melaleuca	2.6±0.9	3.6±1.1	2.7±1.0	3.3±1.0	2.6±1.4	3.7±1.0^c	2.7±0.8	3.6±0.7^a
Placebo	3.2±1.3	3.6±0.8	3.2±0.6	3.1±0.4	2.5±1.0	2.5±0.9	3.1±0.6	3.1±0.7

*p<0,05; **0,001<p<0,01***p<0,001 em relação ao tempo inicial; ap<0,05; cp<0,001 em relação ao grupo placebo

8.4.6. Percepção de eficácia e considerações sobre o uso de cosméticos

85% dos participantes desse estudo clínico (n=66) acharam a formulação fácil de espalhar e 63% acharam o aroma agradável. Nenhum dos participantes do grupo controle achou o aroma agradável. O grupo de nanoemulsão e 4OE apresentaram os principais resultados nessa categoria. Apenas dois participantes, do grupo 3OE, apontaram que não gostaram da formulação. Cerca de 78% dos participantes levantaram a questão de que como o uso de cosméticos era um hábito novo, muitas vezes eles acabavam esquecendo, especialmente nos primeiros 45 dias. Vinte dos participantes disseram que não iniciaram antes o uso de cosméticos por não ter nenhum tipo de informação ou encorajamento.

Uma das perguntas com respostas mais interessantes foi “Se você não utilizava cosméticos antes da pesquisa, como foi começar a criar o hábito de fotoproteção e utilização de produto noturno?”

Um dos participantes que já utilizava produtos cosméticos antes desse estudo alegou que já havia utilizado produtos de hidratação antes, porém, no caso desse, notou uma melhoria mais rápida e forte, em comparação à outros produtos.

Outro participante alegou que só utilizava o fotoprotetor durante atividades físicas em horários em que as temperaturas estavam mais altas. Começar a utilizar novos produtos durante a pesquisa foi ótimo para ele criar hábitos saudáveis para com a pele, e que pretendia fazer consultas dermatológicas. Esse participante era do grupo placebo e nunca tinha feito um atendimento dermatológico.

Mesmo participantes do grupo com 3OE acharam o estudo positivo. Um deles alegou: “Um pouco difícil de criar o hábito de usar as duas formulações, mas depois de umas duas semanas se tornou rotina, principalmente porque a oleosidade do meu rosto passou a me incomodar bem menos depois do início do tratamento”.

Outro participante, do grupo de nanoemulsão, disse que não percebeu eficácia do produto, mas que o protetor solar evitou queimaduras que normalmente eram apresentadas quando ele se expunha ao sol.

59,5% dos participantes afirmaram estarem surpresos com o resultado; 32,4% que eram os resultados esperados e para 8,1% foi indiferente. Ninguém assinalou estar decepcionado.

8.5. DISCUSSÃO

A fotoproteção é importante para proteger a pele dos danos do sol causados pela exposição exagerada à luz ultravioleta. Essa agressão pode afetar a elasticidade da pele ao destruir o colágeno e prejudicar a profundidade das papilas na junção epidérmica dérmica, por exemplo. Como resultado, poros maiores aparecem entre aqueles sem hábitos de fotoproteção, por exemplo (LONGO et al., 2013). Além disso, a pele desprotegida exposta ao sol pode levar à hiperqueratose solar do estrato córneo. Este processo é uma resposta fisiológica à agressão externa porque o estrato córneo espessado também leva a um espalhamento de luz mais forte (MEINKE et al., 2011). No entanto, este parâmetro também poderia influenciar os valores de TEWL, uma vez que a renovação epidérmica será desequilibrada e a formação do estrato córneo pode não ser bem estruturada.

Importante ressaltar que a fotoproteção moderna precisa ser pensada além de filtros UV e expandir essa ideia para proteção em luz visível e infravermelho. Mais de 50% da radiação solar que atinge a superfície terrestre é luz visível, o que enfatiza a importância de se estudar os efeitos dessa radiação na pele, bem como a sua proteção. Vale lembrar que a principal atividade dessas radiações está relacionada com o aumento do estresse oxidativo cutâneo (LOHAN et al., 2016).

O perfil de consumo de cosméticos é uma informação também importante porque os parâmetros de condição da pele, como TEWL, podem ser alterados. Por exemplo, a utilização de um creme de hidratação pode proteger e melhorar a barreira da pele (HADI et al., 2016). Dessa forma, espera-se que os participantes com hábitos cosméticos apresentem melhores condições hidrolipídicas. Para o grupo com hábitos de proteção solar, a distribuição dos valores de TEWL foi mais homogênea, o que significa que todos os participantes apresentaram função de barreira cutânea semelhante.

O aumento da liberação de sebo da área infundibular pode ser consequência da desidratação do estrato córneo e aumento da TEWL para o grupo sem proteção solar, além da relação com a presença de comedões. A formação de filme lipídico na superfície da pele é um fator de compensação do processo de desidratação, aumentando a capilaridade do reservatório infundibular, resultando em maior quantidade de sebo na superfície da pele. Além disso, o processo de fotoenvelhecimento poderia aumentar a área e o número de glândulas sebáceas (ZOUBOULIS & BOSCHBAKOW, 2001). Por outro lado, o sebo produzido pela glândula sebácea e estocado no infundíbulo apresenta propriedade antioxidante. Visto que a exposição ao sol pode reduzir a atividade antioxidante da pele, a maior quantidade de deposição de sebo na superfície da pele também pode ser um mecanismo compensatório (FUSSELL & KELLY, 2020). É importante destacar que os participantes deste estudo são classificados, em sua maioria, como pele oleosa.

Por outro lado, no processo de envelhecimento intrínseco as glândulas sebáceas apresentam diminuição de sua atividade, principalmente em homens com diminuição dos hormônios androgênicos a partir dos trinta anos (RAHROVAN et al., 2018). Dessa forma, neste estudo poderíamos sugerir um processo de fotoenvelhecimento nos jovens participantes que não faziam uso de protetor solar, com aumento da área e número de glândulas sebáceas e comprometimento do estrato córneo, com aumento dos comedões.

A radiação UVB é menos penetrante na pele humana devido ao seu comprimento de onda e atua principalmente nos queratinócitos. Essa ação leva à formação de dímeros de timina no DNA, que podem causar mutações e levar ao câncer de pele, por exemplo. No entanto, essa radiação também é responsável por estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias na epiderme, uma vez que causa eritema, processo inflamatório. Essas citocinas acabam estimulando a produção de metaloproteinase na derme, o que aumenta a degradação da matriz de colágeno. Essa degradação é gradativa e está associada ao tipo de exposição solar: crônica ou recreativa, por exemplo. (BERNEBURG et al., 2000; KRUTMANN & SCHROEDER,

2009; CAVINATO & JANSEN-DÜRR, 2017; RINNERTHALER et al., 2015). Além disso, a epiderme envelhecida tende a ser mais fina e com baixa densidade e qualidade papilar (LONGO 2013, FOSTER et al., 2019). Neste estudo, as imagens do MCR mostraram uma epiderme mais fina com menor qualidade papilar para o grupo sem hábitos de aplicação de filtro solar, características correlacionadas com a pele desprotegida durante a exposição solar.

Neste estudo encontramos indicativos de um processo inflamatório devido à ação do UV. A formação de edema na pele provavelmente causa interferências nas análises ultrassonográficas de alta frequência, uma vez que a água pode interferir nos comprimentos de onda do ultrassom e sua resposta (POLANSKA et al 2013). Foi observado que os participantes sem hábitos de proteção solar apresentam a ausência de pixels nas imagens de ultrassonografia, diferente das imagens de redução de ecogenicidade na derme superior que são clássicas de fotoenvelhecimento (MERCURIO et al., 2016). Além disso, a presença de eritema entre aqueles que não aplicavam protetor solar é um sinal clássico de processo inflamatório causado pela exposição solar desprotegida;

Desde 1995, Olsen e colaboradores já demonstraram que a derme masculina é mais espessa e que apresenta uma menor densidade de colágeno do que a feminina. Além disso, eles mostraram em seu estudo que a região malar é mais densa do que a frontal. Crisan e colaboradores mostraram que em relação à idade, na faixa etária dos participantes do estudo, há uma alta quantidade de pixels ecogênicos em ambas as regiões (CRISAN et al, 2012).

Entretanto, o fato de as imagens, especialmente da região frontal, terem se apresentado de forma escura, sem pixels, levamos ao indício de provavelmente uma inflamação na pele. A ultrassonografia é atrapalhada quando há a presença de edemas em tecidos, o que reforça nossa teoria de que há um processo de fotoenvelhecimento precoce entre os participantes, especialmente os expostos ao Sol.

As diferenças nas técnicas de biofísica e imagem da pele são um indicativo da correlação entre os hábitos de fotoproteção e a saúde da pele. Dessa forma, não apenas a idade, o sexo biológico ou os aspectos nutricionais poderiam influenciar nas características estruturais da pele, mas os hábitos de autocuidado como a proteção solar. Infelizmente, o autocuidado não é tão difundido entre os homens, mesmo os jovens, sendo a masculinidade frequentemente correlacionada com comportamentos prejudiciais à saúde (GALDAS et al., 2005; INFANTE, CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2016; MCKENZIE et al., 2019).

A utilização de técnicas de imagem não invasivas, como microscopia confocal de refletância (MCR), é importante para a obtenção de imagens com resolução histológica próxima, sem os inconvenientes das biópsias. A utilização desta técnica para melhor compreensão do fotoenvelhecimento está bem relatada na literatura (LONGO, 2013; MERCURIO et al., 2016) e devido às evidências clínicas pode ser possível desenvolver o presente escore para avaliação do fotoenvelhecimento da pele.

A utilização desse escore pode ser útil para futuros estudos com o objetivo de avaliar como estilo de vida, consumo de cosméticos, idade, sexo biológico e outras características podem se correlacionar com o processo de fotoenvelhecimento. Além disso, a utilização de um escore clínico é útil para avaliar a eficácia cosmética de diferentes alegações para uma melhor compreensão de sua influência na arquitetura da pele na resolução histológica.

O escore desenvolvido neste estudo permite uma melhor compreensão quanto às alterações epidérmicas e dérmicas superiores para a pele desprotegida. A técnica de MCR é limitada para compreender até a derme papilar, portanto, outra técnica de imagem da pele, como o ultrassom de alta frequência, pode ser útil para uma melhor caracterização. Para o estrato córneo, o alto brilho e a baixa distância do sulco estão envolvidos com uma melhor superfície da pele, o que significa uma renovação epidérmica normal e consequentemente função de barreira em boas condições.

Em relação ao estrato granuloso, o padrão em favo de mel com alto brilho entre os queratinócitos, é um descritor de MCR como uma boa condição da pele (MERCURIO et al., 2016; CAMPOS et al., 2019). Aqui também estudamos a possibilidade de avaliar a hiperqueratinização e a formação de comedões. Bustamante et al. (2019) mostraram em seu estudo a respeito da regulação de genes de expressão em ratos que após exposição à radiação ultravioleta leva à apoptose e queratinização após 6h, seguidas de inflamação, imunoativação e biossíntese de hialuronano, após 24h. Em camundongos, a exposição crônica à radiação UV aumenta o acúmulo de hialuronano na matriz extracelular dos queratinócitos. Desta forma, para o estrato granuloso, tanto o padrão em favo de mel quanto a hiperqueratinização são parâmetros importantes para avaliar possíveis danos UV.

A junção dermoepidérmica é uma das camadas mais importantes em toda a pele, uma vez que se correlaciona com as comunicações, nutrição e outras alterações entre a derme e a epiderme. Desta forma, é fundamental incluir esta camada em nossa pontuação e avaliação do fotodano. Não só o aspecto achatado da junção é observado ao grupo sem fotoproteção, mas também a observação de atrofia epidérmica, provavelmente porque a pele fotodanificada é

marcada por elastose elevada, colágeno e fragmentação pró-colágeno (LONGO et al., 2013). Dessa forma, é lógico que a derme superior é uma característica importante a ser analisada para avaliação da pele fotodanificada, visto que as alterações do colágeno relacionadas ao fotoenvelhecimento podem ser diferentes das observadas para o envelhecimento cronológico. É importante destacar que o processo de fotoenvelhecimento pode levar à formação de papilas policíclicas na junção dermoepidérmica.

Não foram criados escores de avaliação de melanoses porque cada uma delas tem suas características. É sabido que a exposição solar sem proteção aumenta a incidência de distúrbios de pigmentação cutânea (MERCURIO et al., 2016; MARTINI & MAIA CAMPOS, 2017), entretanto, essas características precisam ser estudadas separadamente. Um ponto interessante desse estudo é que encontramos algumas alterações pigmentares causadas e/ou agravadas por exposição solar desprotegida como o melasma em alguns participantes jovens que nem sabiam sobre sua condição clínica. Após a avaliação das imagens por médico dermatologista, os rapazes foram informados e orientados a buscar uma supervisão médica. Esses participantes foram excluídos da etapa clínica.

É importante destacar que mesmo participantes com fototipos inferiores apresentavam, muitas vezes, uma melhor qualidade morfológica e estrutural da pele desde que apresentassem hábitos de fotoproteção. Os distúrbios de pigmentação relacionados ao processo de photoaging podem ser visualizados como melanócitos agrupados, conhecidos na literatura como “mottled pigmentation” (KUTLU HAYTOGLU, 2014; LONGO et al., 2013; MAIA CAMPOS, DE MELO & MERCURIO, 2016).

O processo de photoaging pode levar a distúrbios de pigmentação ou agravar quadros já existentes como por exemplo os cinco casos de melasma reportado nesse estudo. Curiosamente, os dados epidemiológicos e fisiopatológicos publicados na última década forneceram evidências que sustentam a hipótese de que o melasma é um distúrbio do fotoenvelhecimento. Um estudo realizado em 324 pacientes com melasma em nove países do mundo mostrou que o aparecimento dessa melanose ocorre em apenas 20% dos casos por gravidez e quase 10% após a menopausa, o que mostra que não é necessariamente algo correlacionado a variações hormonais femininas. Além disso, o estudo mostrou uma fraca relação da interrupção do uso de pílulas anticoncepcionais com a doença. Curiosamente, um início precoce foi significativamente associado com fototipos menores, enquanto o início tardio foi observado principalmente em tipos de pele mais escuros (ORTONNE et al., 2009; PASSERON & PICARDO, 2018). Estudos epidemiológicos também apontaram que o melasma não é incomum

em homens (HANDA et al., 2018). Dessa forma, cada vez mais tem-se associado o melasma como um distúrbio associado ao processo de fotoenvelhecimento, ou seja, dependente da exposição solar.

Os cinco participantes com melasma, sem hábitos de fotoproteção, apresentavam diferentes graus de melasma visíveis pela MCR (Figura 38). Podemos notar que há diferenças nas condições morfológicas entre os participantes. O caso com pigmentação mais visível, não apresenta uma alta densidade de infiltrado inflamatório, com pigmentação agrupada e papilas policíclicas.

Como mostrado anteriormente ainda foi possível observar hiperpigmentação pós inflamatória (HPPI) em alguns participantes, entretanto, não iremos conduzir um score sobre melanoses pra discutir fotoenvelhecimento nesse caso porque cada uma dessas alterações apresenta suas particularidades e precisam ser discutidas de acordo com sua etiologia. Por exemplo, as HPPI são resultantes após um processo inflamatório como a acne, entretanto podem ter seu quadro piorado após exposição solar (MARTINI et al., 2017). Entretanto não é muito aconselhável comparar esse tipo de melanose com melasma que é uma condição clínica mais grave, como mostrado nas imagens de MCR. O estudo precisaria ser mais bem delimitado focando nesse tipo de alterações cutâneas.

Os homens brasileiros estão expostos a uma alta incidência de UV durante todo o ano e, ao mesmo tempo, apresentam um comportamento sexista para a utilização de cosméticos, mesmo para aplicação de filtro solar. Em nosso estudo, constatamos que menos de 40% dos nossos participantes aplica protetor solar pelo menos três vezes na semana e os participantes mais velhos (30 anos +) apresentam um comportamento de menor exposição, pois trabalham em ambientes fechados durante o dia. Entretanto já estão expostos tanto a envelhecimento cronológico quanto ao danos cumulativos da exposição solar desprotegida.

No presente trabalho, pudemos observar que homens com quase 40 anos e hábitos de fotoproteção apresentam melhor condição da pele se comparados aos participantes mais jovens sem hábitos de fotoproteção. Na verdade, a idade não é a única característica determinante para o envelhecimento da pele e o comportamento surge como um ponto importante para uma melhor compreensão desse processo. Todos os participantes se declararam não fumantes.

Esses resultados são interessantes porque podem ser correlacionados ao fato de homens mais velhos não se exporem ao sol diariamente da mesma forma que os participantes mais jovens. Neste estudo constatamos que a idade não é um fator correlacionado com os hábitos de

fotoproteção ou com o escore médio, apenas uma tendência de correlação com a junção dermoepidérmica, dessa forma, alterações no escore dessa camada podem não estar relacionadas apenas à exposição solar, mas com a própria idade (idade cronológica) ou devido a um processo de fotoenvelhecimento crônico, visto que homens mais velhos sem hábitos de fotoproteção apresentavam pior JDE e redes de colágeno. Porém, como sabemos, a exposição solar não protegida pode agravar o processo de envelhecimento.

Em relação às análises de APC, encontramos três distribuições muito distintas; a região A está relacionada com todos os participantes mais velhos sem hábitos de fotoproteção. Estão mais acumulados na região quanto à maior idade e qualidade do estrato córneo, mas não no eixo x positivo, correlacionado com pontuação média elevada.

Os participantes mais velhos com hábitos de fotoproteção acumulam-se com os participantes mais jovens com os mesmos hábitos (região B). Esse acúmulo está próximo de melhores resultados para a aplicação do escore, ou seja, melhor qualidade geral da pele. Desta forma é possível observar que a idade não é o fator mais importante para a qualidade da pele em nosso estudo, mas o hábito de fotoproteção é fundamental para um melhor processo de envelhecimento da pele.

A terceira região (C), é mais dispersa que as demais e representa os participantes mais jovens sem hábitos de fotoproteção. É possível observar que a extensão do dano cutâneo não é tão homogênea, provavelmente por estar diretamente correlacionada com os hábitos de cada participante, além de outros parâmetros como genética. Os jovens participantes sem fotoproteção estão experimentando um envelhecimento da pele mais avançado se comparados aos participantes mais velhos que aplicam protetor solar regularmente, porém de forma muito particular a cada caso.

Todos os participantes mais jovens apresentam pior estrato córneo e camada granular se comparados aos mais velhos sem fotoproteção. Esses resultados podem ser correlacionados com a ação aguda da exposição solar, com modulação inflamatória por ação da luz UVB nas camadas epidérmicas (CAVINATO & JANSEN-DÜRR, 2017).

Aparentemente o processo de fotoenvelhecimento difere de acordo com os hábitos de exposição, idade e hábitos de fotoproteção. O presente trabalho está focado no processo de fotoenvelhecimento, mas é importante destacar que, apesar dos problemas estéticos e psicológicos relacionados ao fotoenvelhecimento, o câncer de pele é uma neoplasia diretamente

relacionada à exposição solar e pode ser evitada com o simples hábito da proteção solar, que inclui a aplicação de protetor solar.

Diversos resultados relacionados à caracterização da pele foram avaliados neste estudo, comparando medidas objetivas e pontuação clínica, e foram encontradas concordância e algumas discrepâncias entre os três tipos de avaliação da pele para alguns parâmetros. Vários estudos anteriores utilizaram essas técnicas (Imagens de alta resolução, microrrelevo e MCR) para avaliar a eficácia dos tratamentos dermatológicos, mostrando a importância do uso de técnicas complementares em estudos clínicos e para melhor compreender os pontos fortes e fracos de cada uma delas (MERCURIO et al., 2013; CAMPOS et al., 2019).

As imagens dermatoscópicas fornecidas pelo VivaCam® são as melhores para avaliar a presença, tipo e densidade do comedão. As imagens são claras e mostram os comedões fechados e abertos. Porém, a utilização de imagens de microrrelevo pode fornecer outros parâmetros como maciez, aspereza, descamação da pele que podem auxiliar na avaliação da eficácia clínica de produtos cosméticos, por exemplo. A utilização de imagens dermatoscópicas é altamente recomendada para melhor compreensão da densidade e tipo dos comedões. Neste estudo observamos que essas imagens forneceram imagens mais específicas e bem delimitadas, complementando os demais resultados. No estudo sobre a eficácia de produtos cosméticos na redução da acne não inflamatória, por exemplo, foi uma boa alternativa para entender a densidade da redução do comedão após tratamento proposto.

A utilização da MCR para avaliação de lesões de acne, como as não inflamatórias, está bem descrita na literatura (MANFREDINI et al., 2015; MANFREDINI et al., 2017). Imagens de MCR de comedões mostraram uma área variavelmente grande, especialmente para o grupo sem hábitos de fotoproteção. Normalmente preenchido com abundante material amorfo, que pode corresponder ao acúmulo de queratina e sebo. As lesões com diâmetro maior ($> 250 \mu\text{m}$), muitas vezes eram compostas por comedões abertos, com borda infundibular mais irregular e mais espessa e grande quantidade de material amorfo no interior da lesão. As bordas hiper-refletivas são caracterizadas pelo acúmulo de queratina e estão intimamente relacionadas com o acúmulo de sebo, aumento do número de bactérias *C. acnes* e formação de acne, além do processo inflamatório envolvido. Esse processo pode ser estimulado pela exposição ao sol desprotegida e leva ao aumento da quantidade de porfirinas.

Cada técnica de imagem da pele permite uma observação diferente quanto à formação dos comedões. A utilização de cada metodologia deve ser explorada de acordo com a necessidade do protocolo do estudo. O escore de microrrelevo cutâneo permite uma melhor

correlação com as medidas de porfirina quando comparado com as imagens de alta resolução, sendo mais preciso para avaliação de acne não inflamatória. Além disso, essa técnica permite o estudo de microrrelevo, sendo bem desenhada para estudos de eficácia cosmética. Já as imagens dermatoscópicas são mais precisamente para uma melhor compreensão dos comedões abertos e fechados, bem como da densidade. As imagens de RCM auxiliam nas alterações morfológicas e estruturais em relação às lesões de acne não inflamatórias. Neste estudo, mesmo participantes com bons escores para imagens de alta resolução e microrrelevo da pele - principalmente com hábitos de proteção solar - apresentaram considerável densidade de comedões nas imagens dermatoscópicas. No entanto, a gravidade das lesões não inflamatórias da acne para o grupo sem hábitos de fotoproteção foi menor, conforme evidenciado pela avaliação do MCR.

No estudo de eficácia utilizamos principalmente as imagens de microrrelevo, dermatoscopia e MCR para a avaliação da acne não inflamatória. Porém também avaliamos cada lesão – na caracterização e durante a utilização dos cosméticos – para entender mais particularmente as diferenças de ação de cada grupo da pesquisa.

Dessa forma, o presente estudo traz dados relevantes na compreensão das lesões não inflamatórias da acne por meio de técnica inovadora de imagem de pele não invasiva como a MCR. Para estudar a morfologia das lesões de acne sem essas técnicas pode ser necessária a realização de biópsia, uma metodologia invasiva, e na região facial pode ser um procedimento não ético. Não há evidências na literatura de estudos que descrevam o formato dos comedões através da pele utilizando MCR, classificando as lesões de acordo com sua forma.

No presente estudo, foi realizado o estudo clínico de técnicas de padronização de análise de imagens e caracterização de como ela afeta a forma folicular, permitindo correlações entre diferentes regiões faciais. A pele facial apresenta propriedades distintas das demais partes do corpo, com características biofísicas, morfológicas e estruturais distintas. A densidade de folículos na região facial é maior do que nas demais partes do corpo (PAGNONI et al, 1994). Além disso, a pele jovem do sexo masculino é caracterizada por uma maior produção de sebo desde a ação dos esteróides nas glândulas sebáceas.

O estudo da formação do comedo em diferentes regiões faciais de homens jovens com MCR é de grande importância, pois permite uma melhor compreensão de como a fisiopatologia afeta a estrutura e função do folículo, ajudando a melhorar o desenvolvimento cosmético e a sua eficácia consequentemente.

Na verdade, de acordo com Manfredini e colaboradores (2015), a hiperqueratinização infundibular, detectável por MCR como círculos brilhantes em torno dos folículos, pode representar o evento precoce que leva ao desenvolvimento do comedo. A hiperproliferação de queratinócitos ductais e alterações de seu turnover fisiológico e descamação, levam ao acúmulo de corneócitos e queratina dentro do ducto pilosebáceo causando obstrução, responsável por iniciar os eventos que induzem o desenvolvimento do comedão, uma vez que a secreção de sebo pode ser afetada. Dessa forma, o conhecimento dessas estruturas é fundamental para o aprimoramento de produtos cosméticos que podem reduzir o desenvolvimento de comedões e não evoluir clinicamente para uma lesão inflamatória.

Neste estudo não observamos diferenças no formato folicular de acordo com as regiões faciais, mesmo os folículos com comedões não apresentaram diferenças entre as regiões faciais. Em outros estudos, autores correlacionaram os grandes poros da região malar com maior quantidade de comedões, ou seja, os poros aparentes da região malar são maiores quando comparados com outras regiões faciais (CAMPOS et al., 2019). Porém, neste estudo, com as imagens do RCM não observamos diferenças. Pode ser correlacionado com a superfície anatômica e principalmente com a resolução atribuída às imagens MCR.

Dessa forma, foi analisado o número total de lesões e folículos saudáveis. Para o folículo saudável observamos um alargamento na região superior da derme, o que está de acordo com a fisiologia do folículo, pois nesta região observamos a região infundibular, o que causa o alargamento. O folículo saudável apresentou área semelhante para o estrato córneo e o estrato granuloso. Este é um dado importante porque podemos correlacionar com a ausência do processo de hiperqueratinização e a deposição de sebo e queratina na região folicular, além do acúmulo de material amorfo no interior do folículo. Com o gráfico de área da região folicular podemos ver claramente que essa relação é próxima de 1.

O folículo piloso representa uma invaginação da epiderme e, portanto, aumenta a superfície da pele para a penetração de substâncias aplicadas topicamente. Além disso, o volume do infundíbulo folicular constitui um reservatório adicional para substâncias aplicadas topicamente. A densidade pode variar de acordo com a localização anatômica, sexo biológico e etnia (LUTHER et al., 2012). Quando o folículo está comprometido com hiperqueratinização, a área folicular superficial pode ficar comprometida e prejudicar a aplicação de preparações farmacêuticas de uso tópico, como cosméticos. Além disso, o infundíbulo folicular comprometido com comedões pode afetar a eficácia de tais produtos, uma vez que a função reservatório dessa região pode ser comprometida.

De acordo com essas informações, é importante estudar e compreender as alterações estruturais do folículo como quando os comedões são formados. Por exemplo, neste estudo, nas lesões com formato regular, a hiperqueratinização infundibular, detectável pela MCR como círculos brilhantes ao redor dos folículos, pode variar de acordo com a intensidade desse processo. Para lesões com hiperqueratinização espessa, observamos uma redução na relação entre as áreas do estrato córneo e do estrato granuloso. De fato, quando comparado com o folículo normal, observamos um aumento da espessura do estrato granuloso, porém não significativo. Por outro lado, a área do estrato córneo apresentou diferença significativa e o mesmo foi observado para a derme superior. A hiperqueratinização está, possivelmente, correlacionada com o aumento da deposição de sebo na região infundibular, levando à formação de material amorfo no interior do folículo.

Quando os comedões dismórficos são analisados, é ainda pior, pois todas as regiões apresentavam um alargamento em relação ao folículo saudável e até mesmo com os comedões de formato regular e borda espessa. Nesse tipo de lesão mais de um folículo pode se unir e a alteração estrutural é pior. Na figura 43 é possível observar uma representação esquemática com as proporções adequadas para o folículo saudável, comedão regular com borda espessa e a lesão dismórfica. De fato, quando correlacionados os resultados da forma folicular, é possível observar que a lesão dismórfica apresenta aumento do material amorfo e deposição de sebo não apenas na região infundibular, mas em toda a região folicular.

O conhecimento a respeito da alteração folicular com a formação do comedão é importante para a área dermatológica e farmacêutica, pois pode melhorar o desenvolvimento de formulações tópicas para o tratamento da acne não inflamatória. Além disso, a literatura apresenta muitos estudos a respeito da acne inflamatória, porém para as alterações não-inflamatórias são escassos e é o passo inicial para a formação de lesões inflamatórias, piorando o quadro clínico.

É importante destacar a importância da estrutura folicular na pele, principalmente na face com alta densidade dessas estruturas. O sebo produzido nas glândulas sebáceas e posteriormente reservado na região infundibular depende da estrutura folicular a ser secretada. Esse sebo apresenta função antiinflamatória e microbiológica na superfície da pele, além de poder ajustar o pH. Os folículos, conforme mencionado acima, são importantes por sua função de reservatório na aplicação de produtos tópicos, por exemplo. Dessa forma, é fundamental o conhecimento da fisiopatologia da região folicular para melhorar as condições do paciente e o desenvolvimento de produtos tópicos.

Podemos observar que as formulações cosméticas desenvolvidas apresentaram diferentes resultados e cada um, ao seu modo, foi importante para que possamos entender as atividades de óleos essenciais na pele. Entretanto, primeiro é necessário discutir os resultados observados para os participantes que utilizaram foto protetor por 15 dias. A redução no eritema visível e através de técnicas de biofísica evidenciou um aspecto importante: o fotoenvelhecimento dos rapazes jovens tem um caráter mais agudo do que crônico, devido à exposição desprotegida. Esse assunto foi discutido anterior mas devido aos resultados obtidos podemos perceber que 15 dias de uso de fotoprotetor já reduz consideravelmente o eritema, apesar de não melhorar as demais características como TEWL.

Outro ponto interessante neste estudo é a nanoemulsão da árvore do chá atuando como um hidratante nas camadas mais profundas da pele. De fato, pudemos observar uma redução da espessura do estrato córneo com o aumento dos níveis de hidratação do estrato córneo após 90 dias. O aumento dos níveis de hidratação do estrato córneo após 90 dias pode ser correlacionado com a diminuição da espessura do mesmo. Apesar de não ter alcançado resultado significativo na comparação com o grupo controle para o teor de água do estrato córneo, foi possível observar, comparando com o grupo placebo, um aumento significativo da área de queratinócitos no estrato granuloso e uma melhora na morfologia observada utilizando o score de fotoenvelhecimento (Tabelas 25,26,27, e 28).

Manfredini et al. (2013) mostraram em seus estudos que imagens de MCR no estrato granuloso podem apresentar maior brilho de interqueratinócitos para hidratante, mas não para área controle. Como resultado, a área de queratinócitos pode aumentar. Além disso, pequenas células na camada granular são indicativas de uma renovação desregulada, reduzindo a organização da epiderme. Neste estudo, constatamos que a adição de 2% de uma nano emulsão no preparo cosmético resultou em alteração da área celular e melhora nas características morfológicas e estruturais da epiderme.

Observamos redução do sebo na superfície da pele após 90 dias de uso para quase todos os grupos, inclusive o placebo, mas só foram significativos os que continham melaleuca na composição. Oliveira et al (2016) observaram redução da oleosidade após 30 dias de uso de cosmético com 2% do mesmo óleo essencial e resveratrol combinados.

A nanoemulsão resultou em melhora na profundidade papilar após 90 dias de uso e no escore relativo à junção derme-epiderme (Tabela 27). Isso foi observado para o óleo essencial puro, entretanto, os resultados para a profundidade papilar foram significativos quando comparados ao grupo placebo.

Em relação à ecogenicidade da derme, é possível observar que esses dois grupos apresentaram melhora na densidade das fibras de colágeno evidenciada pela ecogenicidade. O escore de colágeno, usando imagens de MCR, também foi melhorado quando comparado ao placebo, para ambos os grupos, mas não para o placebo. De fato, é possível observar melhora qualitativa em toda a epiderme e mesmo na derme papilar pela microscopia confocal. Darwin et al. (2014) observaram em seu estudo que a exposição prolongada ao sol reduz significativamente os carotenóides cutâneos e a concentração de colágeno/elastina. Dessa forma, a utilização do óleo essencial de melaleuca, mesmo em nanoemulsão, melhorou essas alterações cutâneas devido às suas propriedades antioxidantes.

O grupo com nanoemulsão não foi significativo no aumento da espessura epidérmica como o grupo do óleo puro e a provável causa está correlacionada com a redução da concentração de M. alternifolia presente na nanoemulsão quando comparada com o outro grupo. O mesmo se observar para os grupos com óleos em combinação. Mais estudos para entender a influência na concentração e as possíveis melhorias da pele precisam ser realizados.

Terpinen-4-ol, o componente majoritário no óleo essencial de melaleuca, pode reduzir a produção de fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1), IL-8, IL-10 e prostaglandina E2, suprimir produção de superóxido por monócitos e apresenta boa atividade contra acne e outras infecções bacterianas já descritas na literatura (HAMMER et al., 2015). Além disso, o terpinen-4-ol modula a vasodilatação e o extravasamento de plasma (PAZYAR et al., 2013). No processo de envelhecimento - principalmente o fotoenvelhecimento - essas citocinas são desequilibradas, dessa forma, a utilização do óleo essencial de melaleuca como ativo antienvhecimento pode ser uma boa alternativa, pois pode melhorar o processo de renovação da pele. Além disso, como evidenciado neste estudo, a melaleuca apresentou uma propriedade antioxidante notavelmente elevada, sendo interessante para aplicações cosméticas, principalmente para evitar o fotoenvelhecimento, uma vez que a propriedade antioxidante da pele é reduzida após exposição ao sol desprotegida (LADEMANN et al., 2016).

Além dos resultados observados para melaleuca e sua nanoemulsão, os estudos clínicos foram conduzidos com as duas misturas de óleos essenciais para avaliar a eficácia da sinergia. Na verdade, foi observada uma ação sinérgica nas propriedades da barreira pele para os óleos essenciais quando estes são misturados ao óleo essencial de melaleuca e esses resultados estão provavelmente relacionados com o estudo de penetração.

A ação sinérgica quanto às características hidro lipídicas da pele foi observada no grupo com 4 óleos essenciais, principalmente para as propriedades de barreira da pele, reduzindo a

TEWL após 90 dias de uso. Este resultado pode ser correlacionado com um possível efeito de oclusão leve causado pelos óleos. Para óleos fixos - compostos por ácidos graxos - o efeito de oclusão já é descrito na literatura (PATZELT et al., 2012; CHOE et al., 2015), porém para óleos essenciais isso ainda não está bem descrito na literatura. Esse efeito é provavelmente causado pela adição de dois óleos essenciais menos penetrantes: lavanda e melaleuca. É importante ressaltar que a ação sinérgica só ocorre quando melaleuca foi adicionada aos outros óleos essenciais (4OE), uma vez que o grupo 3OE não apresentou resultados significativos para as propriedades de barreira cutânea, provavelmente devido à melhor deposição no SC superior região para o grupo 4OE, como mostrado pela avaliação ex vivo.

A adição de uma pequena quantidade de óleo essencial de melaleuca (0,5% m/m) foi suficiente para observar um comportamento sinérgico entre os óleos e levar à melhora da barreira cutânea. A exposição à poluição, luz solar e outros xenobióticos podem aumentar a água transepidérmica e afetar a permeabilidade da função de barreira, gradiente de cálcio epidérmico, síntese de lipídeos epidérmicos, produção de citocinas e resposta após insultos, acidez SC, hidratação e barreira antimicrobiana (KRUTMAN et al., 2017; CHOI, 2019). Dessa forma, a formulação com quatro óleos essenciais é uma boa candidata para melhorar a função de barreira da pele. Vale lembrar que a barreira da pele dos participantes sem hábitos de foto proteção estava inicialmente mais elevada.

Os métodos biofísicos para avaliação da função de barreira cutânea e hidratação do estrato córneo são amplamente utilizados em diferentes estudos (SOUZA et al., 2017; CAMARGO et al., 2011; CHOE et al., 2016; DAL'BELO et al., 2006; MAIA CAMPOS et al., 2017). Na pele saudável, esses parâmetros dependem de diferentes fatores, como localização anatômica, sexo ou idade. Quando a barreira da pele é danificada, os valores de TEWL aumentam, enquanto a pele saudável tende a ter baixos valores de TEWL e altos valores de hidratação do estrato córneo. Altos valores de hidratação dessa camada da pele não representam necessariamente valores baixos de TEWL, uma vez que a função de barreira é altamente dependente de outros fatores, como a composição lipídica e a organização dos corpos lamelares, que também tem relação com a renovação da pele (CHOE et al., 2016; CAMPOS et al., 2019).

A manutenção da composição hidrolipídica da pele é importante, pois pode evitar afecções cutâneas, como a acne (JORDAN & BALDWIN, 2016; CAMPOS et al., 2019). A hiperseborreia, a excreção excessiva de sebo para a superfície da pele, tem sido considerada um dos principais fatores da acne.

No entanto, as alterações na atividade das glândulas sebáceas também se correlacionam com a composição dos ácidos graxos do sebo, e a taxa de secreção não é afetada por produtos cosméticos. As frações lipídicas do sebo podem apresentar propriedades pró-inflamatórias, estando associadas no processo de desenvolvimento das lesões acneicas. A alteração na quantidade e proporção de composição dos lipídios da superfície da pele pode alterar as propriedades oxidativas/antioxidantes, levando ao desenvolvimento de acne e posterior inflamação (ZOUBOULIS et al., 2014, CAMPOS et al., 2019). Dessa forma, os óleos essenciais em sinergia parecem ser bons candidatos a uma formulação cosmética para melhorar a barreira cutânea, reequilibrar a composição lipídica e reduzir as manifestações de doenças cutâneas, como acne. De fato, para este grupo e os de melaleuca e nano emulsão, observamos uma redução nas lesões não inflamatórias (comedões), provavelmente pela redução na hiperqueratinização folicular como observado pelas imagens de MCR (Figura 57).

Observamos uma ótima atividade para todos os grupos com óleo de melaleuca em diferentes camadas da pele, mas não uma atividade homogênea para todos os grupos. Isso quer dizer que cada associação ou forma de apresentação do óleo de melaleuca foi responsável por melhorar a pele dos rapazes deste estudo, mas com mecanismos diferentes.

O grupo de 4OE foi responsável especialmente pela melhora nas características hidrolipídicas, refletindo na organização dos estratos córneo e granuloso, enquanto a nano emulsão melhorou também as camadas superiores de acordo com o escore, mas também apresentou efeito especialmente no colágeno localizado na derme. Esse efeito, entretanto, foi mais pronunciado para o grupo de melaleuca pura e tem uma provável correlação com a maior concentração e atividade antioxidante superior.

As formulações de 4OE e nanoemulsão merecem destaque na redução da oleosidade superficial e de comedões. Apesar da formulação de melaleuca pura mostrar uma redução da hiperqueratinização folicular, essas outras duas formulações foram responsáveis por reduzir os escores de microrrelevo e o número de lesões por dermatoscopia. Entretanto, a nanoemulsão apresentou os resultados mais expressivos.

De fato, pode-se observar que a formulação de 4OE atua superficial – como já discutido com a redução do TEWL e estudos de penetração – reduzindo a área dos comedões no estrato córneo. A nano emulsão, por outro lado, atua mesmo nas camadas mais profundas, como a derme superior, reduzindo a área dos comedões. Há uma tendência para o grupo de melaleuca pura, mas que provavelmente não foi significativa haja visto o número de participantes no estudo envolvendo MCR (n=6 por grupo).

Provavelmente os resultados envolvendo a formulação com a nanoemulsão podem estar correlacionados com a maior capacidade de penetração desse sistema de liberação e maior compatibilidade com o estrato córneo. Outro fator importante: a melhora no colágeno pode ter refletido na estruturação da região folicular. É sabido que com o fotoenvelhecimento e os danos nas fibras de colágeno, há uma tendência no alargamento dos folículos (INFANTE et al, 2021). Isso, de fato, estava ocorrendo com nossos participantes e com a melhora que a nano emulsão ocasionou, foi possível visualizar uma melhora para os demais parâmetros.

A utilização dessas formulações pode ser importante para que possíveis lesões inflamatórias não progridam. A redução nos comedões ocasiona especialmente pela redução de hiperqueratinização folicular e melhora em determinadas condições morfológicas e estruturais da pele mostram que produtos cosméticos tem um potencial preventivo interessante.

Todos os participantes desse estudo, seja de qual for o grupo, apresentaram algum tipo de melhora, seja pela utilização da formulação ou mesmo pela aquisição de um hábito de fotoproteção. As respostas de percepção de eficácia mostram que a aproximação com o público masculino é fundamental para que eles possam entender os impactos positivos do uso de cosméticos. Especialmente com relação aos hábitos de fotoproteção. A aproximação desse público com cuidados diários e preventivos é uma forma de reduzir incidência de doenças de pele como câncer de pele, que é mais prevalente em homens (MCKENZIE et al, 2019).

Em síntese, o presente trabalho trouxe informações importantes, com caráter interdisciplinar, buscando entender não apenas a relação comercial do homem com produtos cosméticos, mas aspectos socioculturais que afetam o acesso à utilização de protetor solar, por exemplo. Essa informação, junto dos resultados obtidos na parte de caracterização da pele, foi vital para que pudéssemos desenvolver formulações pensando exatamente nas alterações observadas, como por exemplo, fotoprotetor com amplo espectro de proteção e formulações com óleos essenciais capazes de reverter não apenas a oleosidade excessiva e presença de comedões, mas também os sinais de fotoenvelhecimento observados nesse estudo. É interessante observar que, mesmo a utilização e desenvolvimento da base de amidos, foi pensado através do estudo de consumidor, haja visto a busca por produtos de origem natural e de toque seco. Dessa forma, a inovação tecnológica precisa – e pode – ser pensada junto do conhecimento não apenas das aspirações do consumidor, mas também das influências socioculturais com relação ao uso e acesso a produtos cosméticos,

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de cosméticos pelo público masculino enfrenta várias barreiras e, ao contrário do que é dito popularmente, não há clara relação com sensorial e preço, essa relação acontece apenas com os homens que usam cosméticos de forma frequente. Os homens querem consumir cosméticos, porém ainda apresentam uma barreira sexista que associa seu uso a público feminino e negação do processo de autocuidado.

As principais motivações para o consumo de cosméticos são relacionadas à conquista de posições de trabalho, deixando posições amorosas de lado. Os homens desse estudo são, de fato, vaidosos, mas apresentam barreiras culturais para o início de utilização de produtos cosméticos, mesmo os mais essenciais como fotoprotetores, o que reflete em danos relacionados ao fotoenvelhecimento.

Os óleos essenciais podem apresentar uma tendência a cito ou fototoxicidade e é de extrema importância, utilizando testes alternativos, o seu estudo. Aqui observamos que, apesar de nenhum óleo essencial apresentar fototoxicidade, a tangerina foi citotóxica dependente de concentração no modelo de estudo aqui apresentado. Esse mesmo óleo apresentou o maior perfil de penetração através do estrato córneo, porém quando em combinação com outros óleos houve redução do perfil de penetração e na eficácia clínica vimos melhora na barreira da pele. No estudo *in vitro*, entretanto, a combinação continuou sendo citotóxica dependente de concentração, reafirmando a necessidade de combinarmos diferentes estudos, em diferentes níveis de complexidade, para uma melhor compreensão da segurança e eficácia.

A utilização de microespectroscopia RAMAN foi essencial para a caracterização dos óleos essenciais do estudo, sendo importante para óleos essenciais, haja visto que são misturas complexas voláteis e essa técnica nos fornece um *fingerprint* da substância. Esse princípio também foi importante para o estudo de penetração dos óleos, pois fornece mais subsídios.

Ao separarmos os rapazes em grupos com relação aos hábitos de fotoproteção vemos impactos negativos em praticamente todos os parâmetros biofísicos, morfológicos e estruturais analisados para o grupo sem fotoproteção. Especialmente na região malar, provavelmente por conta da forma de aplicação dos rapazes que usam fotoprotetor que iniciam a aplicação na região frontal. A intervenção com o uso de fotoprotetor por apenas 15 dias já reduziu drasticamente a formação de eritema, consequência da exposição desprotegida à radiação UV. Os rapazes que já utilizavam protetor solar não apresentaram danos significativos na pele, sem presença de rugas, eritema e apenas HPPI e efélides foram observadas. O distanciamento do homem, mesmo jovem, dos produtos cosméticos afeta diretamente na autoestima e no autocuidado, refletido pelas respostas de que muitos rapazes, sem hábitos de fotoproteção, não

tinham incentivos para seu uso e nem procuravam dermatologistas. Empresas devem se atentar e começar a usar imagens masculinas em propagandas de fotoproteção fugindo também dos estereótipos, haja visto que o “ser homem” é plural.

Amidos podem ser modificadores sensoriais e reológicos importantes, especialmente se são de diferentes fontes botânicas. A análise fatorial foi importante nesse estudo para o desenvolvimento de cosméticos, sendo essencial para o desenvolvimento da base cosmética de amidos que foi aplicada em todos os outros cosméticos desenvolvidos. A análise fatorial foi também utilizada para desenvolver as formulações cosméticas do estudo clínico. A adição de óleos essenciais em formulações semissólidas levou a perda de viscosidade e a associação de emoliente e copolímero em um ensaio fatorial visando a formulação com melhor resposta fatorial, contornou o problema de estabilidade encontrado no início do estudo.

O desenvolvimento de fotoprotetores, importante ponto desse estudo haja vista a relação dos homens com esse produto, também foi satisfatório. A adição de PEG-75 lanolina melhorou as características físico-mecânicas da formulação, melhorando a dispersão dos filtros na superfície da pele e melhorando o FPS da formulação, sem adicionar mais filtros UV. Além disso, todas as formulações fotoprotetoras apresentaram alto FPRL e as formulações F1 e F2 apresentaram proteção da luz visível, com destaque à formulação F2, que também apresenta FPRL superior à F1. Esse comportamento está relacionado também às propriedades ópticas das formulações porque as formulações apresentam amidos em sua composição, além da lanolina. O alto índice de dispersão da F2 refletiu em melhor atividade de proteção da luz visível.

A pele oleosa com tendência à formação de comedões caracteriza-se pelo acúmulo de queratina e sebo na região folicular, sendo importante o estudo de sua fisiologia. A depender do tipo de lesão há maior comprometimento das características morfológicas e estruturais. Para o estudo da eficácia de cosméticos, o conhecimento desse tipo de lesões é importante para que possamos compreender quais são as possíveis abordagens no desenvolvimento de cosméticos. A escolha de metodologias adequadas é importante para a melhor compreensão da eficácia de cosméticos, com destaque à microscopia confocal de reflectância à laser e fotos de microrrelevo cutâneo.

A utilização de melaleuca, bem como de sua nanoemulsão, nas formulações cosméticas e os resultados obtidos pode estar relacionada com a ação antioxidante da melaleuca que, por ser tão alta, reduz os danos relativos ao estresse oxidativo nessas camadas da pele. Pode não ser uma relação específica com a penetração da substância, mas com sua concentração e capacidade antioxidante, além é claro da própria condição inicial dos participantes.

Como apresentado, o desenvolvimento de cosméticos para o público masculino é um processo que não deve considerar apenas diferenças fisiológicas com relação às mulheres, mas também aspectos socioculturais. Não adianta desenvolver o melhor produto levando todas as particularidades da pele masculina se há um afastamento desse grupo do consumo cosmético. É preciso unir todos esses conhecimentos, garantindo não apenas eficácia e segurança, mas também acesso e aceitação do público masculino.

10. CONCLUSÕES

Os principais produtos utilizados pelos homens são relativos à higiene e perfumaria. Médicos são um canal de comunicação entre os homens brasileiros e produtos cosméticos. O homem raramente é representado na mídia em contato com cosméticos, mesmo fotoprotetores. Os homens querem consumir cosméticos, porém ainda encontram uma barreira que associa seu uso a público feminino e negação do processo de autocuidado.

De acordo com os resultados obtidos no estudo de caracterização da pele, observamos que os garotos sem hábito de fotoproteção apresentaram piores características morfológicas, estruturais e hidrolipídicas em todas as avaliações realizadas com as técnicas de biofísica e imagem da pele. Mesmo jovens há evidências de sinais clínicos de fotoenvelhecimento em estado mais avançado do que aqueles com hábitos regulares de fotoproteção. Essas alterações estão relacionadas com um processo inflamatório agudo com presença de eritema e edema. A utilização de protetor solar durante 15 dias já reduziu consideravelmente essas observações.

Homens mais velhos que não usam fotoprotetor apresentam danos mais cumulativos em camadas mais profundas do que homens mais jovens, que apresentam uma extensão de danos mais heterogênea que podem variar com vários fatores, entre eles, os hábitos de exposição solar. Homens mais velhos apontaram também enfrentar uma barreira de uso dos produtos cosméticos, o que impacta diretamente na saúde da pele.

Além disso, o desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino precisa ser pensado além das diferenças fisiológicas em relação às mulheres, sendo importante pensar a própria relação dos homens com cosméticos e sua representação nas publicidades.

Na etapa de desenvolvimento das formulações observamos que a utilização de amidos em sinergia pode ser uma alternativa ao uso de polímeros de origem sintética, reduzindo possíveis impactos ambientais. Essa tecnologia foi empregada em todo o desenvolvimento, auxiliando nas formulações fotoprotetoras e com óleos essenciais. A adição de PEG-75 lanolina no fotoprotetor melhorou as características físico-mecânicas da formulação, melhorando a dispersão dos filtros na superfície da pele e melhorando o FPS da formulação, sem adicionar mais filtros UV. Também observamos o aumento do FPRL e do índice de dispersão para a luz visível, mostrando que a formulação apresenta uma eficácia superior e pode ser uma alternativa aos homens jovens que não tem hábitos cosméticos.

Os óleos essenciais apresentaram perfil de segurança satisfatório, apenas o óleo de tangerina apresenta citotoxicidade dependente de concentração e esse mesmo óleo é o que

apresenta o maior perfil de penetração. Os demais óleos essenciais têm a tendência de ficarem mais retidos no estrato córneo, especialmente os de lavanda e melaleuca. Todos os óleos essenciais foram não fototóxicos. O óleo de melaleuca apresentou um FPRL muito alto, sendo interessante para a utilização em cosméticos com aplicações contra o fotoenvelhecimento, muito recorrente entre os rapazes jovens.

Com relação à acne não inflamatória, o aumento da queratinização folicular pode ser reflexo da exposição solar desprotegida, o que leva também a um maior comprometimento da região folicular, que pode levar a lesões inflamatórias. A utilização de técnicas de biofísica e imagem da pele, bem como o estudo detalhado com relação às alterações morfológicas da região folicular, foram fundamentais para a implementação de protocolo clínico adequado para avaliação dessas lesões não inflamatórias.

No estudo clínico observamos que as formulações 4OE, melaleuca e nanoemulsão apresentaram os melhores resultados. A formulação 4OE apresentou melhoras nas propriedades hidrolípídicas da pele, refletindo em melhor estruturação das camadas superiores da epiderme. Não foi observado o mesmo com os 3 OE, mostrando uma atividade sinérgica do óleo de melaleuca com os demais. Isso foi observado na penetração, provavelmente porque a melaleuca diminuiu a penetração dos óleos e eles ficaram mais depositados nas camadas superiores, o que refletiu nas melhoras observadas.

A nanoemulsão e óleo essencial de melaleuca não encapsulado atuaram de forma mais expressiva nas camadas mais profundas da pele, melhorando a morfologia e densidade das papilas dérmicas e colágeno, especialmente no grupo que aplicou o óleo essencial de melaleuca, o qual estava em maior concentração na formulação. A nanoemulsão apresentou o melhor resultado para melhora da acne, com redução da área das lesões e hiperqueratinização. Essa atividade, muito provavelmente, está relacionada com a forma farmacêutica de apresentação, havendo maior deposição da nanoemulsão na região folicular, onde há a formação de comedões.

A utilização de uso de cosméticos pelos homens impactou, em sua grande maioria, positivamente os participantes, mostrando que os homens não têm uma relação negativa com esses produtos, mas sim um desconhecimento e estranhamento de sua utilização.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, Shigeru et al. Suppression of tumor necrosis factor-alpha-induced neutrophil adherence responses by essential oils. *Mediators of inflammation*, v. 12, n. 6, p. 323-328, 2003.

ABIHPEC, Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. (2015). Acesso em: 13 jul. 2020.

ABRAHAM, William. Surfactant effects on skin barrier. *Surfactants in cosmetics*. Routledge, p. 493-508, 2017.

ABRAMOVITS, William; GONZALEZ-SERVA, Aldo. Sebum, cosmetics, and skin care. *Dermatologic clinics*, v. 18, n. 4, p. 617-620, 2000.

AGAMA-ACEVEDO, Edith; BELLO-PEREZ, Luis A. Starch as an emulsions stability: the case of octenyl succinic anhydride (OSA) starch. *Current Opinion in Food Science*, v. 13, p. 78-83, 2017.

ALARCON, I., LONGO, C., GONZÁLEZ, S. In Vivo Reflectance Confocal Microscopy in Dermatology. *In Imaging in Dermatology*, pp. 169-186, 2016.

ALBANESI, C. et al. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, v. 4, n. 3, p. 329-334, 2005.

ALBRECHT, S. et al. Skin type differences in solar-simulated radiation-induced oxidative stress. *British Journal of Dermatology*, n. 180(3), p. 597-603, 2019.

ALVES DA SILVA LIMA, S. The Little Male Secret: Analysis about the male self-concept related to the consumption of beauty products. Tese de doutorado. Dublin, National College of Ireland, 2019.

ANDRADE, J. P., MERCÚRIO, D.G., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Avaliação celular das estruturas cutâneas por meio da microscopia confocal de reflectância. *RBM. Revista Brasileira de Medicina*, v. 72, pp. 4-13, 2015.

ANGONESE, R. Ambiente, interpretação e estratégia: um estudo na indústria brasileira de cosméticos. 2008, 241 f. Dissertação (Mestrado em Administração). Universidade Positivo, Curitiba, 2008.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos, v. I, 2004.

- ARNDT, S. et al. Radical protection in the visible and infrared by a hyperforin-rich cream—in vivo versus ex vivo methods. *Experimental Dermatology*, v. 22, n. 5, p. 354-357, 2013.
- ASSERIN, J. et al. The effect of oral collagen peptide supplementation on skin moisture and the dermal collagen network: evidence from an ex vivo model and randomized, placebo-controlled clinical trials. *Journal of cosmetic dermatology* v.14, n.4, p. 291-301, 2015.
- BAILEY, S. H. et al. The use of non-invasive instruments in characterizing human facial and abdominal skin. *Lasers in surgery and medicine*, v. 44. n. 2, p. 131-142, 2012.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology* v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BAKOS, L. et al. Sunburn, sunscreens, and phenotypes: some risk factors for cutaneous melanoma in southern Brazil. *International journal of dermatology*, v. 41, n. 9, p. 557-562, 2002.
- BAQUIÉ, M., & KASRAEE, B. Discrimination between cutaneous pigmentation and erythema: comparison of the skin colorimeters Dermacatch and Mexameter. *Skin Research and Technology*, v. 20, n. 2, p. 218-227, 2014.
- Baranska, M., Schulz, H., Krüger, H., Quilitzsch, R. Chemotaxonomy of aromatic plants of the genus *Origanum* via vibrational spectroscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, v. 381, n. 6, p. 1241-1247, 2005.
- BARGO, P. R. et al. Non-invasive assessment of tryptophan fluorescence and confocal microscopy provide information on skin barrier repair dynamics beyond TEWL. *Experimental dermatology*, v. 22, n.1, p. 18-23, 2013.
- BASF Schweiz AG, Sunscreen Simulator, 2009. Disponível em: <http://www.basf.com/sunscreen-simulator>. Acessado em 12 de fevereiro de 2017.
- BENEVENUTO, C.G., GUERRA, L.O., GASPAR, L.R. Combination of retinyl palmitate and UV-filters: phototoxic risk assessment based on photostability and in vitro and in vivo phototoxicity assays. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 68, p. 127-136, 2015.
- BERNEBURG, M.; PLETTENBERG, H.; KRUTMANN, J. Photoaging of human skin. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine: Review article*, v. 16. n. 6, p. 239-244, 2000.

BHATTACHARYA, P. A review on the impacts of microplastic beads used in cosmetics. *Acta Biomedica Scientia*, v. 3, n. 1, p. 47-52, 2016.

BIAŁOŃ, M. et al. Chemical Composition of Two Different Lavender Essential Oils and Their Effect on Facial Skin Microbiota. *Molecules*, v. 24. n. 18, p. 3270, 2019.

BIELFELDT, S.; BÖHLING, A.; WILHELM, P. K. Bioengineering Methods to Assess Aging Parameters in the Depth of the Skin. *SOFW-Journal*, v. 3, p. 1-8, 2011.

BIESTERBOS, J.W.H, et al. "Usage patterns of personal care products: important factors for exposure assessment." *Food Chemical Toxicology* v. 55, p. 8-17, 2013.

BILIA, A.R. et al. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.

BINDER, S. et al. Adverse phototoxic effect of essential plant oils on NIH 3T3 cell line after UV light exposure. *Central European journal of public health*, v. 24, n. 3, p. 234-240, 2016.

BOGDAN, C. et al. Improvement of skin condition in striae distensae: Development, characterization and clinical efficacy of a cosmetic product containing Punica granatum seed oil and Croton lechleri resin extract. *Drug design, development and therapy*, v. 11. p. 521, 2017.

BOUKARI, F. et al. Prevention of melasma relapses with sunscreen combining protection against UV and short wavelengths of visible light: a prospective randomized comparative trial. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 72. n. 1, p. 189-190, 2015.

BRANZAN, A.L.; LANDTHALER, M.; SZEIMIES, R.M. In vivo confocal scanning laser microscopy in dermatology. *Lasers Med Sci*, v.22, n.2, p. 73-82, 2007.

BREATHNACH, A. S.; WYLLIE, L. M. Electron microscopy of melanocytes and melanosomes in freckled human epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 42., n. 5, p. 389-394, 1964.

CALIXTO, L. S.; INFANTE, V. H. P.; CAMPOS, P. M.B.G. M. Design and characterization of topical formulations: correlations between instrumental and sensorial measurements. *AAPS PharmSciTech*, v. 19, n. 4, p. 1512-1519, 2018.

CALIXTO, L. S.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Physical–Mechanical characterization of cosmetic formulations and correlation between instrumental measurements and sensorial properties. *International journal of cosmetic science*, v. 39, n. 5, p. 527-534, 2017.

- CALIXTO, L. S., et. al. Interactions between UV filters and active substances in emulsion: effect on microstructure, physicochemical and in-vivo properties. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 553, n.1-2, p. 220-228, 2018.
- CALIXTO, L. S. et al. Brazilian and French sensory perception of complex cosmetic formulations: a cross-cultural study. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 42, n. 1, p. 60-67, 2020.
- CANNAS, S. et al. Chemical composition, cytotoxicity, antimicrobial and antifungal activity of several essential oils. *Natural product research*, v. 30, n. 3, p. 332-339, 2016.
- CARDIA, G. F. E. et al. Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on acute inflammatory response. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
- CARSON, C. F. & RILEY, T. V. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. *Contact Dermatitis*, v. 45, n. 2, p. 65-67, 2001.
- CARVALHO, J.D.R. Vaidade masculina: um estudo sobre a mudança de hábitos do homem contemporâneo. 2010. Monografia (Comunicação Social, ênfase em Publicidade e Propaganda). Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2010.
- CAVANAGH, H. M. A.; WILKINSON, J. M. Lavender essential oil: a review. *Australian infection control*, v. 10, n. 1, p. 35-37, 2005.
- CAVINATO, M. & JANSEN-DÜRR, P. Molecular mechanisms of UVB-induced senescence of dermal fibroblasts and its relevance for photoaging of the human skin. *Experimental gerontology*, v. 94, p. 78-82, 2017.
- CERIDONO M. et al. The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test: Practical experience and implications for phototoxicity testing—The report of an ECVAM–EFPIA workshop. *Regulatory Toxicology Pharmacology*, v. 63, n. 3, 2012.
- CERQUEIRA, A. C. et. al. Comportamento do consumidor de cosméticos: um estudo exploratório. *Revista Formadores*, v. 6, n. 1, p. 128-157, 2013.
- CHOE, C. S.; LADEMANN, J.; DARVIN, M. E. Gaussian-function-based deconvolution method to determine the penetration ability of petrolatum oil into in vivo human skin using confocal Raman microscopy. *Laser Physics*, v. 24, n. 10, 105601, 2014.

CHOE, C. S.; LADEMANN, J.; DARVIN, M. E. Analysis of human and porcine skin in vivo/ex vivo for penetration of selected oils by confocal Raman microscopy. *Skin pharmacology and physiology*, v. 28, n. 6, p. 318-330, 2015a.

CHOE, C. S.; LADEMANN, J.; DARVIN, M. E. Confocal Raman microscopy for investigating the penetration of various oils into the human skin in vivo. *Journal of Dermatological Science*, v. 79, n. 2, p. 176-178, 2015b.

CHOE, C., LADEMANN, J.; DARVIN, M. E. Lipid organization and stratum corneum thickness determined in vivo in human skin analyzing lipid-keratin peak (2820–3030 cm^{-1}) using confocal Raman microscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 47, n. 11, p. 1327-1331, 2016.

CHOE, C. S. et al. Keratin-water-NMF interaction as a three-layer model in the human stratum corneum using in vivo confocal Raman microscopy. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.

CHOI, E.H. Aging of the skin barrier. *Clinics Dermatology*, v. 37 n. 4, p. 336-345, 2019.

CHULAROJANAMONTRI, L. et al. Moisturizers for acne: what are their constituents? *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, v. 7, n. 5, p. 36, 2014.

COOK, T. H. et al. Quantification of the skin's topography by skin profilometry. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 4, n. 5, p. 195-205, 1982.

COSTA, A., ALCHORNE, M. M. A., GOLDSCHMIDT, M. C. B. Fatores etiopatogênicos da acne vulgar. *Anais brasileiros de dermatologia*, 2008.

COURTENAY, W. H. Constructions of masculinity and their influence on men's well-being. *Coll Men Masculinities Theory Res Implic Pract*, 307, 2010.

COUTEAU, C. et al. Sunscreen products: What do they protect us from? *International Journal of Pharmaceutics*, v. 415, 2011

COUTEAU, C., DIARRA, H., COIFFARD, L. Effect of the product type, of the amount of applied sunscreen product and the level of protection in the UVB range on the level of protection achieved in the UVA range. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 500, p. 210-216, 2016.

COWLEY, K.; VANOOSTHUYZE, K. Insights into shaving and its impact on skin. *British Journal of Dermatology*, v. 166, p. 6-12, 2012.

CREIGHTON, G.; OLIFFE, J. L. Theorising masculinities and men's health: A brief history with a view to practice. *Health Sociology Review*, v. 19, n. 4, p. 409-418, 2010.

CRISAN, D. et al. Ultrasonographic assessment of skin structure according to age. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, v. 78, n. 4, p. 519, 2012.

CHRISTENSEN, L. et al. Bacterial infection as a likely cause of adverse reactions to polyacrylamide hydrogel fillers in cosmetic surgery. *Clinical infectious diseases*, v. 56, n. 10, p. 1438-1444, 2013.

CROWTHER, J. M. Method for quantification of oils and sebum levels on skin using the Sebumeter®. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, n. 2, p. 210-216, 2016.

CUCUMEL, K. et al. Age-related changes in human skin by confocal laser scanning microscope. *INTECH Open Access Publisher*, p. 757-772, 2012.

DA CUNHA, M. G.; DA CUNHA, A. L. G.; MACHADO, C. A. Hipoderme e tecido adiposo subcutâneo: duas estruturas diferentes. *Surgical & cosmetic dermatology*, v. 6, n. 4, p. 355-359.

DAFERERA, D. J., TARANTILIS, P. A., POLISSIOU, M. G. Characterization of essential oils from Lamiaceae species by Fourier transform Raman spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 50, n. 20, p. 5503-5507, 2002.

DAL' BELO, S. E., GASPAR, L. R, MAIA CAMPOS, P. M. B.G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Research Technology*, v.12, p.241-246, 2006.

DAL'BELO, S. E. et al. Skin penetration of Epigallocatechin -3 - gallate and quercetin from green tea and ginkgo biloba extracts vehiculated in cosmetic formulations. *Skin Pharmacology Physiology*, v. 22, p. 299-304, 2009.

DARLENSKI, R.; FLUHR, J. W. Influence of skin type, race, sex, and anatomic location on epidermal barrier function. *Clinics in dermatology*, v. 30, n. 3, p. 269-273, 2012.

DARVIN, M. E. et al. Influence of sun exposure on the cutaneous collagen/elastin fibers and carotenoids: negative effects can be reduced by application of sunscreen. *Journal of Biophotonics*, v. 7, n. 9, p. 735-743, 2014.

DA SILVA, J. K. D. et al. O comportamento de compra e consumo de cosméticos: um estudo exploratório. *Gestión Joven*, v. 19, n. 10, 2019.

- DAS, S.; REYNOLDS, Rachel V. Recent advances in acne pathogenesis: implications for therapy. *American journal of clinical dermatology*, v. 15, n. 6, p. 479-488, 2014.
- DE BEAUVOIR, Simone. O segundo sexo. Nova Fronteira, 2014.
- DECKER, A., GRABER, E. M. Over-the-counter acne treatments: a review. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, v. 5, n. 5, p. 32, 2012.
- DEPLEWSKI, D. ROSENFELD, R. L. Role of hormones in pilosebaceous unit development. *Endocrine reviews*, v. 21, n. 4, p. 363-392, 2000.
- DELSIN, S. D. et al. Clinical efficacy of dermocosmetic formulations containing Spirulina extract on young and mature skin: effects on the skin hydrolipidic barrier and structural properties. *Clinical Pharmacology and Biopharmacology*, v. 4, n. 2, p. 144, 2015.
- DE ASSIS, L. V. M. et al. How does the skin sense sun light? An integrative view of light sensing molecules. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 100403, 2021.
- DE CAMPOS ARAÚJO, L. M. P.; THOMAZINE, J. A.; LOPEZ, R. F. V. Development of microemulsions to topically deliver 5-aminolevulinic acid in photodynamic therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 75, n. 1, p. 48-55, 2010.
- DE MELO, M. O., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Characterization of oily mature skin by biophysical and skin imaging techniques. *Skin Research and Technology*, v. 24, n. 3, p. 386-395, 2018.
- DE MELO, M. O., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Application of biophysical and skin imaging techniques to evaluate the film-forming effect of cosmetic formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 41, n. 6, p. 579-584, 2019.
- DE JESUS, J. G. Orientações sobre identidade de gênero: conceitos e termos. Brasília: Autor, 2012.
- DE MORAES KYRILLOS, G.; ALMEIDA, L. F. Mídia: uma ferramenta a favor ou contra a redefinição das características de gênero? *Revista Habitus – IFSC/UFRJ*, v. 8, n. 2, 2015.
- DE OLIVEIRA, P. P. A construção social da masculinidade. Vol. 22. Editora UFMG, 2004
- DEYNO, S. et al. Essential oils as topical anti-infective agents: A systematic review and meta-analysis. *Complementary therapies in medicine*, v. 47, p. 102224, 2019.

DHAKAD, A. K. et al. Biological, medicinal, and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, n. 3, p. 833-848, 2018.

DOBREV, H. Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. *Journal of cosmetic dermatology*, v. 6, n. 2, p. 113-118, 2007.

DÓRIA, L. B. A mudança de representação da masculinidade no discurso publicitário: uma análise da desconstrução de gênero nas marcas Avon e Natura. 2017. 81 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Comunicação - Habilitação em Publicidade e Propaganda) – Escola de Comunicação, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

DRÉNO, B. et al. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 32, p. 5-14, 2018.

DUARTE, C. A. L. et al. Are men really different from women?: analysis of men buying behaviour of cosmetic products. 2019. Tese de doutorado – Universidade Católica Portuguesa, 2019.

DUBUISSON, P. et al. How does composition influence the texture of cosmetic emulsions?. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2018, 536. Jg., S. 38-46.

DUTRA, Mirian Gisele Escobar. Vaidade masculina: a percepção do homem sobre a beleza e os cuidados com a aparência. 2010.

ELPELT, A. et al. Insight into the redox status of inflammatory skin equivalents as determined by EPR spectroscopy. *Chemico-biological interactions*, v. 310, s. 108752, 2019.

ENSHAIEH, S. et al. The efficacy of 5% topical tea tree oil gel in mild to moderate acne vulgaris: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, v. 73, n. 22, v. 1, 2007.

ESCOBAR-CHAVEZ, J. J. et al. The tape-stripping technique as a method for drug quantification in skin. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, v. 11, n. 1, p. 104-130, 2008.

ESSENDOUBI, M., et al. Human skin penetration of hyaluronic acid of different molecular weights as probed by Raman spectroscopy. *Skin Research and Technology*, v. 22, n. 1, p. 55-62, 2016.

ESTANQUEIRO M, AMARAL MH, SOUSA LOBO JM. Comparison between sensory and instrumental characterization of topical formulations: impact of thickening agents. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, n. 4, p. 389-98, 2016.

EUROMONITOR INTERNATIONAL. About Euromonitor International. Disponível em: <<https://www.euromonitor.com/pt - euromonitor - about - us>>. Acessado em: <03.30.2020.>

FARAG, N. F. et al. Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. *Industrial Crops and Products*, v. 124, p. 870-877, 2018.

FARRAR, M. D., INGHAM, E. Acne: inflammation. *Clinics in dermatology*, v. 22, n. 5, p. 380-384, 2004.

FAUCHEUX, E. et al. Residual film formation after emulsion application: understanding the role and fate of excipients on skin surface. *International Journal of Pharmaceutics*, s. 119453, 2020.

FDA - Department of Health and Human Services and Colipa. Sunscreen Testing According to COLIPA 2011/FDA Final Rule 2011 Using UV/vis LAMBDA Spectrophotometers, 1-9, 2011.

FERNANDES, A. B. R. A. O discurso e a construção do homem 2.0: um estudo sobre o papel da comunicação na expansão do mercado masculino de beleza no Brasil a partir do caso Men's Market. 2016. 98 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Comunicação - Habilitação em Publicidade e Propaganda) - Escola de Comunicação, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

FERREIRA, V. T. P. et al. Application of Factorial Design and Rheology to the Development of Photoprotective Formulations. *Aaps Pharmscitech*, v. 21, n. 2, s. 46, 2020.

FICHEUX, A. S. et al. Consumption of cosmetic products by the French population second part: amount data. *Food and Chemical Toxicology*, v. 90, p. 130-141, 2016.

FICHEUX, A.S. et al. Consumption and exposure to finished cosmetic products: A systematic review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 124, p. 280-299, 2019.

FIROOZ, A. et al. Variation of biophysical parameters of the skin with age, gender, and body region. *The Scientific World Journal*, 2012.

FLAMENT, F. et al. Effect of the sun on visible clinical signs of aging in Caucasian skin. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, v. 6, s. 221, 2013.

FONSECA, P. Co. Ser um homem feminino? Como a publicidade contribui para a desigualdade de gênero. *Temática*, v. 11, n. 4, 2015.

FORBES. Beleza masculina vai alcançar US\$78,6 bilhões em 2023. Disponível em: <https://forbes.com.br/negocios/2020/02/beleza-masculina-vai-alcancar-us-786-bilhoes-em-2023/>. Acesso em: 06 de agosto de 2020 às 09:50.

FOSSA SHIRATA, M. M.; ALVES, G. A. D.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Photoageing-related skin changes in different age groups: a clinical evaluation by biophysical and imaging techniques. *International journal of cosmetic science*, v. 41, n. 3, p. 265-273, 2019.

FOSSA SHIRATA, M. M.; CAMPOS, PMBG Maia. Influence of UV filters on the texture profile and efficacy of a cosmetic formulation. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 39, n. 6, p. 622-628, 2017.

FOSSA, M. M. S.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Importance of texture profile and sensory evaluation in the dermocosmetic development. *Surgical Cosmetic Dermatology*, n. 8., p. 223-230, 2018.

FOSTER, A. R. et al. Osmolyte transporter expression is reduced in photoaged human skin: Implications for skin hydration in aging. *Aging cell*, e13058, 2019.

FRENCH, D. Organization of starch granules. *In: Starch: Chemistry and technology*. Academic Press, p. 183-247, 1984.

FURTADO, J.A. Título do trabalho: Identidade masculina e publicidade: Uma discussão contemporânea. In: III ENECULT – Encontro de Estudos Multidisciplinares em Cultura, 2007.

FUSSELL, J. C., KELLY, F. J. Oxidative contribution of air pollution to extrinsic skin ageing. *Free radical biology & medicine*, n. 151, v. 111, 2020.

GALDAS, P. M.; CHEATER, F.; MARSHALL, P. Men, and health help-seeking behaviour: literature review. *Journal of advanced nursing*, v. 49, n. 6, p. 616-623, 2005.

GARBOSSA, W. A. C., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Euterpe oleracea, Matricaria chamomilla, and Camellia sinensis as promising ingredients for development of skin care formulations. *Industrial Crops and Products*, v. 83, p. 1-10, 2016.

GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. Rheological behavior, and the SPF of sunscreens. *International journal of pharmaceutics*, v. 250, n. 1, p. 35-44, 2003.

GASPAR, L. R. et al. Skin phototoxicity of cosmetic formulations containing photounstable and photostable UV-filters and vitamin A palmitate. *Toxicology in vitro*, v. 27, n.1, p. 418-425, 2013.

GIACOMONI, P. U., Thomas Mammone, and Matthew Teri. Gender-linked differences in human skin. *Journal of dermatological science*, v. 55, n. 3, p. 144-149, 2009.

GIANETI, M.D. et al. The Use of Nanotechnology in Cosmetic Formulations: The Influence of Vehicle in the Vitamin A Skin Penetration. *Currently Nanoscience*, v. 8, 2012b

GIANETI, M. D., MERCURIO, D. G., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. The use of green tea extract in cosmetic formulations: not only an antioxidant active ingredient. *Dermatologic therapy*, v. 26, n. 3, p. 267-271, 2013.

GILBERT, L., et al. Impact of polymers on texture properties of cosmetic emulsions: a methodological approach. *Journal of sensory studies*, v. 27, n. 5, p. 392-402, 2012.

GLAAD. Media Reference Guide 2016. New York e Los Angeles, 2016. Disponível em: <<https://www.glaad.org/reference>>. Acesso em 02 jun. 2020.

GNIADECKA, M., JEMEC, G. B. E. Quantitative evaluation of chronological ageing and photoageing in vivo: studies on skin echogenicity and thickness. *British Journal of Dermatology*, v. 139, n. 5, p. 815-821, 1998.

GONZÁLEZ, S.; GILABERTE-CALZADA, Y. In vivo reflectance-mode confocal microscopy in clinical dermatology and cosmetology. *International Journal of Cosmetic Sciences*, v. 30, n.1, p. 1-17, 2008.

GRICE, E. A., SEGRE, J. A. The skin microbiome. *Nature reviews microbiology*, v. 9, n. 4, p. 244-253, 2011.

GRIFFITH, D. M., et al. Masculinity in men's health: Barrier or portal to healthcare? In: Men's health in primary care. Humana Press, Cham, 2016. S. 19-31.

- GUARATINI, T., GIANETI, M. D., CAMPOS, P. M. B. G. Stability of cosmetic formulations containing esters of Vitamins E and A: chemical and physical aspects. *International journal of pharmaceutics*, v. 327, n. 1-2, p. 12-16, 2006.
- HAAG, S. F. et al. Comparative study of carotenoids, catalase and radical formation in human and animal skin. *Skin pharmacology and physiology*, v. 23, n. 6, p. 306-312, 2010.
- HADI, H. et al. The investigation of the skin biophysical measurements focusing on daily activities, skin care habits, and gender differences. *Skin Research and Technology*, v. 22, n. 2, p. 247-254, 2016.
- HAMES, S. C., et al. Automated segmentation of skin strata in reflectance confocal microscopy depth stacks. *PloS one*, v. 11, n. 4, 2016.
- HAMMER, K. A. et al. A review of the toxicity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil. *Food and chemical toxicology*, v. 44, n. 5, p. 616-625, 2006.
- HAMMER, K. A. Treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: a review of efficacy, tolerability and potential modes of action. *International journal of antimicrobial agents*, v. 45, n. 2, p. 106-110, 2015.
- HARPER, R. A., GROVE, G. Human skin fibroblasts derived from papillary and reticular dermis: differences in growth potential in vitro. *Science*, v. 204, n. 4392, p. 526-527, 1979.
- HERMAN, A., HERMAN, A. P. Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery: a review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 67, n. 4, p. 473-485, 2015.
- HOLDICH, R. G. et al. Production and evaluation of floating photocatalytic composite particles formed using Pickering emulsions and membrane emulsification. *Industrial & engineering chemistry research*, v. 51, n. 38, p. 12509-12516, 2012.
- HUNTER, A.; TREVINO, M. Film formers enhance water resistance and SPF in sun care products. *Cosmetics and Toiletries*, v.119, n. 7, p. 51-56, 2004.
- INFANTE, V. H. P., CALIXTO, L. S.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Cosmetics consumption behavior among men and women and the importance in products indication and treatment adherence. *Surgical and Cosmetic Dermatology*, v. 8, n. 2, 2016.

INFANTE, V. H. P., CALIXTO, L. S.; CAMPOS, P. M. B. G. Propriedades físico mecânicas de formulações tópicas à base de diferentes polímeros. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, v. 16, n. 2, p. 213-222, 2019.

INFANTE, V. H. P., DE MELO, M. O., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. The social and scientific evolution of the cosmetic science—a brasilein view. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, v. 15, n. 1, p. 82-93, 2018.

INFANTE, V.H.P., CALIXTO, L.S., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Application of tapioca and corn starches as an alternative for synthetic polymers in cosmetic products. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020 (in press).

INFANTE, V.H.P. et al. Influence of physical-mechanical properties on SPF in sunscreen formulations on *ex vivo* and *in vivo* skin. *International Journal Pharmaceutics*, v. 598, 120262, 2021a

INFANTE, V.H.P., BAGATIN, E., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Skin photoaging in young men: a clinical study by skin imaging techniques. *International Journal of Cosmetic Sciences*, 2021b.

INFANTE, V.H.P. et al. Eco-friendly sunscreen formulation based on starches and PEG-75 lanolin increases the antioxidant capacity and the light scattering activity in the visible light. *Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2021c (submetido).

JACOBI, U. et al. Estimation of the relative stratum corneum amount removed by tape stripping. *Skin Research and Technology*, v. 11, n. 2, p. 91-96, 2005.

JACOBI, U. et al. Porcine ear skin: an in vitro model for human skin. *Skin Research and Technology*, v. 13, p. 19-24, 2007.

JANG, H. J., SHIN, C. Y., KIM, K. B. Safety evaluation of polyethylene glycol (PEG) compounds for cosmetic use. *Toxicological research*, v. 31, n. 2, p. 105-136, 2015.

JORDAN, L., BALDWIN, H. E. Stratum Corneum Abnormalities and Disease-Affected Skin: Strategies for Successful Outcomes in Inflammatory Acne. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, v. 15, n. 10, p. 1170-1173, 2016.

JOSHI, Laxmi S.; PAWAR, Harshal A. Herbal cosmetics and cosmeceuticals: An overview. *Nat Prod Chem Res*, 2015, 3. Jg., Nr. 2, S. 170.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J., CASAROLI-MARANO, R. P. *Histologia básica*. Barcelona: Masson, 2013.

KAMINSKY, A. et al. Large prospective study on adult acne in Latin America and the Iberian Peninsula: risk factors, demographics, and clinical characteristics. *International journal of dermatology*, v. 58, n. 11, p. 1277-1282, 2019.

KATHE, K., KATHPALIA, H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, v. 12, n. 6, p. 487-497, 2017.

KAWASAKI, K., YAMANISHI, K., HIDEKAZU, Y. Age-related morphometric changes of inner structures of the skin assessed by in vivo reflectance confocal microscopy. *International journal of dermatology*, v. 54, n. 3, p. 295-301, 2015.

KAZEMI, M. et al. Deep skin wound healing potential of lavender essential oil and licorice extract in a nanoemulsion form: Biochemical, histopathological and gene expression evidence. *Journal of Tissue Viability*, 2020.

KEJLOVÁ, K., et al. Phototoxicity of bergamot oil assessed by in vitro techniques in combination with human patch tests. *Toxicology in Vitro*, v. 21, n. 7, p. 1298-1303, 2007.

KEJLOVÁ, K., et al. Phototoxicity of essential oils intended for cosmetic use. *Toxicology in vitro*, v. 24, n. 8, p. 2084-2089, 2010.

KHAN, M. A., ALI, M., ALAM, P. Phytochemical investigation of the fruit peels of *Citrus reticulata* Blanco. *Natural Product Research*, v. 24, n. 7, p. 610-620, 2010.

KHAN, I. et al. Men's attitude and motivation toward consumption of grooming products: A comparison of Chinese and Pakistani male consumers. *Cogent Business & Management*, v. 4, n. 1, s. 1309783, 2017.

KIKEN, D. A., COHEN, D. E. Contact dermatitis to botanical extracts. *American Journal of Contact Dermatitis*, v. 13, n. 3, p. 148-152, 2002.

KIM, B. Y., SHIN, S. Antimicrobial and improvement effects of tea tree and lavender oils on acne lesions. *Journal of Convergence Information Technology*, v. 8, n. 13, p. 339, 2013.

KLEINPENNING, M. M. et al. Clinical and histological effects of blue light on normal skin. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, v. 26, n. 1, p. 16-21, 2010.

KLEMP, M. et al. Comparison of morphologic criteria for actinic keratosis and squamous cell carcinoma using in vivo multiphoton tomography. *Experimental Dermatology*, v. 25, n. 3, p. 218-222, 2016.

KRUTMANN, J. et al. The skin aging exposome. *Journal of dermatological science*, v. 85, n. 3, p. 152-161, 2017.

KRUTMANN, J., SCHROEDER, P. Role of mitochondria in photoaging of human skin: the defective powerhouse model. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, v. 14, n. 1. Elsevier, 2009.

KUMAR, V. et al. Eco-friendly methodology for efficient synthesis and scale-up of 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate using *Rhizopus oryzae* lipase and its biological evaluation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 41, n. 6, p. 907-912, 2014.

KUTLU HAYTOGLU, N. S., et al. Assessment of skin photoaging with reflectance confocal microscopy. *Skin Research and Technology*, v. 20, n. 3, p. 363-372, 2014.

KWANGJAI, J. et al. Modification of brain waves and sleep parameters by *Citrus reticulata* Blanco. cv. Sai-Nam-Phueng essential oil. *Biomedical Journal*, 2020.

LADEMANN, J. et al. Influence of nonhomogeneous distribution of topically applied UV filters on sun protection factors, *Journal of Biomedical Optics*, v. 9, p. 1358-62, 2004.

LADEMANN, J. et al. Synergy effects between organic and inorganic UV filters in sunscreens. *Journal of biomedical optics*, v. 10, n. 1, s. 014008, 2005.

LADEMANN, J. et al. Hair follicles—a long-term reservoir for drug delivery. *Skin pharmacology and physiology*, v. 19, n. 4, p. 232-236, 2006.

LADEMANN, J. et al. Hair follicles—an efficient storage and penetration pathway for topically applied substances. *Skin pharmacology and physiology*, v. 21, n. 3, p. 150-155, 2008.

LADEMANN, J. et al. Hair follicles as a target structure for nanoparticles. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, v. 8, n.4, s. 1530004, 2015.

LAGARRIGUE, S. G. et al. In vivo quantification of epidermis pigmentation and dermis papilla density with reflectance confocal microscopy: variations with age and skin phototype. *Experimental dermatology*, v. 21, n.4, p. 281-286, 2012.

- LASAGNI, C., SEIDENARI, S. Echographic assessment of age-dependent variations of skin thickness: A study on 162 subjects. *Skin Research and Technology*, v. 1, n. 2, p. 81-85, 1995.
- LEHMANN, A., et al. Starch based thickening agents for personal care and surfactant systems. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 331, n. 1-2, p. 150-154, 2008.
- LEITE, M. G. A., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Correlations between sebaceous glands activity and porphyrins in the oily skin and hair and immediate effects of dermocosmetic formulations. *Journal of cosmetic dermatology*, v.19, n. 11, p. 3100-3106, 2020.
- LEITE, M. G., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Development, and efficacy evaluation of hair care formulations containing vegetable oils and silicone. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2018.
- LEITE, M. G., Maia Campos, P. M. B. G. Development of shampoo formulations with guarana extract: Influence of thickening agents in the texture profile. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, v. 7, n. 1, p. 6-6, 2019.
- LERTSATITTHANAKORN, P. et al. In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. *International Journal of Aromatherapy*, v. 16, n. 1, p. 43-49, 2006.
- LESLIE, H. A. Review of microplastics in cosmetics. *IVM Institute for Environmental Studies*, v. 476, p. 1-33, 2014.
- LEVEQUE, J. L. et al. In vivo studies of the evolution of physical properties of the human skin with age. *International journal of dermatology*, v. 23, n. 5, p. 322-329, 1984.
- Lim, H. W. et al. American Academy of Dermatology Consensus Conference on UVA protection of sunscreens: summary and recommendations. Washington, DC, Feb 4, 2000, *Journal of American Academy of Dermatology*, v. 44, p. 505-508, 2001.
- LIN, J. Y., FISHER, D. E. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*, V. 445, N. 7130, p. 843-850, 2007.
- LI, X. et al. A review of the role of sebum in the mechanism of acne pathogenesis. *Journal of cosmetic dermatology*, v. 16, n. 2, p. 168-173, 2017.
- LOHAN, S. B. et al. Determination of the antioxidant status of the skin by in vivo-electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *Cosmetics*, v. 2, n. 3, p. 286-301, 2015.

LÖKEN, L. S., OLAUSSON, H. The skin as a social organ. *Experimental brain research*, v. 204, n. 3, p. 305-314, 2010.

LONGO, C. et al. Skin aging: in vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 68, n. 3, p. e73-e82, 2013.

LONGO, C. et al. Laser skin rejuvenation: epidermal changes and collagen remodeling evaluated by in vivo confocal microscopy. *Lasers in medical science*, v. 28, n. 3, p. 769-776, 2013.

LONGO, C., Pellacani, G. Reflectance confocal microscopy. *European Handbook of Dermatological Treatments*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1129-1137, 2015.

LORETZ, L. J. et al. Exposure data for cosmetic products: lipstick, body lotion, and face cream. *Food and Chemical Toxicology*, v. 43, n. 2, p. 279-291, 2005.

LUEBBERDING, S., KRUEGER, N., KERSCHER, M. Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. *International journal of cosmetic Science*, v. 35, n. 5, p. 477-483, 2013.

LUEBBERDING, S., KRUEGER, N., KERSCHER, M. Mechanical properties of human skin in vivo: a comparative evaluation in 300 men and women. *Skin Research and Technology*, v. 20, n. 2, p. 127-135, 2014a.

LUEBBERDING, S., KRUEGER, N., KERSCHER, M. Quantification of age-related facial wrinkles in men and women using a three-dimensional fringe projection method and validated assessment scales. *Dermatologic Surgery*, v. 40, n. 1, p. 22-32, 2014b.

LUTHER, N. et al. Ethnic differences in skin physiology, hair follicle morphology and follicular penetration. *Skin pharmacology and physiology*, v. 25, n. 4, p. 182-191, 2012.

Ma, Y-F., et al. "Reflectance confocal microscopy for the evaluation of sensitive skin." *Skin Research and Technology* 23.2 (2017): 227-234.

MACIEL, B. et al. Implementation of an in vitro methodology for phototoxicity evaluation in a human keratinocyte cell line. *Toxicology in Vitro*, v. 61, s. 104618, 2019.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G., MELO, M. O., MERCURIO, D. G. Use of advanced imaging techniques for the characterization of oily skin. *Frontiers in Physiology*, v. 10, n. 254, 2019.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G. et al. Cichorium intybus root extract: A “vitamin D-like” active ingredient to improve skin barrier function. *Journal of Dermatological Treatment*, v. 28, n. 1, p. 78-81, 2017.

MANDAL, S., MANDAL, M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 5, n. 6, p. 421-428, 2015.

MANFREDINI, M. et al. Does skin hydration influence keratinocyte biology? In vivo evaluation of microscopic skin changes induced by moisturizers by means of reflectance confocal microscopy. *Skin research and technology*, v. 19, n. 3, p. 299-307, 2013.

MANFREDINI, M. et al. Acne: in vivo morphologic study of lesions and surrounding skin by means of reflectance confocal microscopy. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 29, n. 5, p. 933-939, 2015.

MANFREDINI, M. et al. In vivo monitoring of topical therapy for acne with reflectance confocal microscopy. *Skin Research and Technology*, v. 23, n. 1, p. 36-40, 2017.

MAN, M. Q. et al. Variation of skin surface pH, sebum content and stratum corneum hydration with age and gender in a large Chinese population. *Skin pharmacology and physiology*, v. 22, n. 4, p. 190-199, 2009.

MANN, T. et al. High-energy visible light at ambient doses and intensities induces oxidative stress of skin—Protective effects of the antioxidant and Nrf2 inducer Licochalcone A in vitro and in vivo. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, v. 36, n. 2, p. 135-144, 2020.

MARQUELE-OLIVEIRA, F. et al. Development of nitrosyl ruthenium complex-loaded lipid carriers for topical administration: improvement in skin stability and in nitric oxide release by visible light irradiation. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, v. 53, n. 4, p. 843-851, 2010.

MARTINI, A. P. M., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Influence of visible light on cutaneous hyperchromias: clinical efficacy of broad-spectrum sunscreens. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v. 34, n. 4, p. 241-248, 2018.

MARTINI, A. P. M., MERCURIO, D. G.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Assessment of skin pigmentation by confocal microscopy: Influence of solar exposure and protection habits on cutaneous hyperchromias. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 16, n. 3, p. 364-369, 2017.

- MARTO, J. et al. Design of novel starch-based Pickering emulsions as platforms for skin photoprotection. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 162, p. 56-64, 2016.
- MATTHIENSEN, A. Uso do Coeficiente Alfa de Cronbach em Avaliações por Questionários. Embrapa Roraima-Documentos (INFOTECA-E), 2011.
- MAXIMO, A. R., Leite, R. S. Sou homem com H! O movimento migratório do consumo de produtos de beleza. *Consumer Behavior Review*, v. 4, n. 1, p. 19-37, 2020.
- MAZZARELLO, Vi. et al. Clinical Assessment of New Topical Cream Containing Two Essential Oils Combined with Tretinoin in the Treatment of Acne. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, v. 13, n. 233, 2020.
- MCCARTY, M. Evaluation and management of refractory acne vulgaris in adolescent and adult men. *Dermatologic clinics*, v. 34, n. 2, p. 203-206, 2016.
- MCKENZIE, C., RADEMAKER, A. W., KUNDU, R. V. Masculine norms and sunscreen use among adult men in the United States: A cross-sectional study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 81, n. 1, p. 243-244, 2019.
- MEINKE, M. C. et al. Radical protection by sunscreens in the infrared spectral range. *Photochemistry and photobiology*, v. 87, n. 2, p. 452-456, 2011.
- MERCURIO, D. G. et al. Clinical scoring and instrumental analysis to evaluate skin types. *Clinical and Experimental Dermatology*, v. 38, n. 3, p. 302-309, 2013.
- MERCURIO, D. G. et al. Morphological, structural and biophysical properties of French and Brazilian photoaged skin. *British Journal of Dermatology*, v. 174, n. 3, p. 553-561, 2016.
- MIZUKOSHI, K., AKAMATSU, H. The investigation of the skin characteristics of males focusing on gender differences, skin perception, and skin care habits. *Skin Research and Technology*, v. 9, n. 2, p. 91-99, 2013.
- MILLER, J. Making up is masculine: The increasing cultural connections between masculinity and make-up. *Critical Studies in Men's Fashion*, v. 1, n. 3, p. 241-253, 2014.
- MILLER, T. A metrosexual eye on queer guy. *GLQ: A Journal of Lesbian and Gay Studies*, v. 11, n. 1, p. 112-117, 2005.

MOZDZENSKI, L., AGUIAR, P. D. Entre cabras-machos, ogros e o 'novo homem': o ethos e o pathos construindo masculinidades em propagandas de cosméticos masculinos.

MÜNDLEIN, M. et al. Comparison of transepidermal water loss (TEWL) measurements with two novel sensors based on different sensing principles. *Sensors and Actuators A: Physical*, v. 142, n. 1, p. 67-72, 2008.

NAGASHIMA, A. A comparison of Japanese and US attitudes toward foreign products. *The Journal of Marketing*, p. 68-74, 1970.

NAKAHARA, T. et al. Analysis of sebum lipid composition and the development of acneiform rash before and after administration of EGFR inhibitor. *Current oncology*, v. 22, n.2, e. 124, 2015.

NAKAHIGASHI, N., SUGAI, T. Assesment of Degeneration by Sun-Exposure Using Ultrasonic Imaging with Dermascan C. *Skin research*, v. 38, n. 1, p. 25-30, 1996.

NATARAJ, B. et al. Comparative toxicity of UV-filter Octyl methoxycinnamate and its photoproducts on zebrafish development. *Science of Total Environment*, v. 718, 134546, 2020.

NATHALIE, D. et al. Assessment of the phototoxic hazard of some essential oils using modified 3T3 neutral red uptake assay. *Toxicology in vitro*, v. 20, n. 4, p. 480-489, 2006.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. SEER Surveillance Epidemiology and End Results. 2011-2015. Cancer Stat Facts: Melanoma of the Skin. Disponível em: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>. Acessado em 09 de julho de 2020.

NEWTON, V. L. et al. Novel approaches to characterize age-related remodelling of the dermal-epidermal junction in 2D, 3D and in vivo. *Skin Research and Technology*, v. 23, n. 2, p. 131-148, 2017.

NIKOLIĆ, S., et al. Skin photoprotection improvement: synergistic interaction between lipid nanoparticles and organic UV filters. *International journal of pharmaceutics*, v. 414, n. 1-2, p. 276-284, 2011.

OBA, A. et al. A non-invasive method for measuring invisible subcutaneous UV damage. In: *22nd IFSCC Congress*, 2002, Edinburgh. Cosmetic Science for a Global Marketplace, CD-ROM, 2002.

OEDC - Organization for Economic Co-operation and Development, OECD Guidelines for Testing of Chemicals Test no. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test, 2004. Disponível

em: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocus/oecd/oecd432-508.pdf> (Acessado em 04 de fevereiro de 2019)

OLIVEIRA, Pedro Paulo. A construção social da masculinidade. Editora UFMG, 2004.

OLIVEIRA, P. F. et al. Cytotoxicity screening of essential oils in cancer cell lines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 25, n. 2, p. 183-188, 2015.

OLIVEIRA, C. S. et al. Development and preliminary cosmetic potencial evaluation of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) oil and resveratrol for oily skin. *Journal of Dermatology Research Therapy*, v. 2, n. 032, 2016.

ORCHARD, A. et al. The in vitro antimicrobial evaluation of commercial essential oils and their combinations against acne. *International journal of cosmetic science*, n. 40, v. 3, p. 226-243, 2018.

ORTONNE, J. P. et al. Abstract. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 23, n. 11, p. 1254-1262, 2009.

OTBERG, N. et al. Variations of hair follicle size and distribution in different body sites. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 122, n. 1, p. 14-19, 2004.

PAGNONI, A. et al. Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy: correlation with sebum output. *British Journal of Dermatology*, v. 131, n. 6, p. 862-865, 1994.

PARK, B. et al. Eucalyptus globulus extract protects against UVB-induced photoaging by enhancing collagen synthesis via regulation of TGF- β /Smad signals and attenuation of AP-1. *Archives of biochemistry and biophysics*, n. 637, p. 31-39, 2018.

PARK, G.H. et al. Socioeconomic factors influencing cosmetic usage patterns. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, v. 28, n. 3, p. 242-250, 2018.

PASAPANE, J., SOLAREK, D. Specialty Starches for Personal Care [J]. *Detergent & Cosmetics*, v. 4, 2001.

PASSERON, T., PICARDO, M. Melasma, a photoaging disorder. *Pigment cell & melanoma research*, v. 31, n. 4, p. 461-465, 2018.

PAVONI, L. et al. An overview of micro-and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability. *Nanomaterials*, v. 10, n. 1, p. 135, 2020.

PAZYAR, N. et al. A review of applications of tea tree oil in dermatology. *International journal of dermatology*, v. 52, n. 7, p. 784-790, 2013.

PEI, H. et al. Separation and purification of lanosterol, dihydrolanosterol, and cholesterol from lanolin by high-performance counter-current chromatography dual-mode elution method. *Journal of separation science*, v. 42, n. 12, p. 2171-2178, 2019.

PELLACANI, G., SEIDENARI, S. Variations in facial skin thickness and echogenicity with site and age. 1999.

PIÉRARD, G. E., UHODA, I., PIÉRARD-FRANCHIMONT, C. From skin microrelief to wrinkles. An area ripe for investigation. *Journal of cosmetic dermatology*, v. 2, n. 1, p. 21-28, 2003.

PHILLIPS, T. J. et al. Effect of daily versus intermittent sunscreen application on solar simulated UV radiation–induced skin response in humans. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 43, n. 4, p. 610-618, 2000.

POCHI, P. E. et al. Plasma testosterone and estrogen levels, urine testosterone excretion, and sebum production in males with acne vulgaris. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 25, n. 12, p. 1660-1664, 1965.

POLAŃSKA, A. et al. Comparison between high-frequency ultrasonography (Dermascan C, version 3) and histopathology in atopic dermatitis. *Skin Research and Technology*, v. 19, n. 4, p. 432-437, 2013.

POLLEFLIET, C. et al. Morphological characterization of solar lentigines by in vivo reflectance confocal microscopy: a longitudinal approach. *International journal of cosmetic science*, v. 35, n. 2, p. 149-155, 2013.

POMPPER, D. Masculinities, the metrosexual, and media images: Across dimensions of age and ethnicity. *Sex roles*, v. 63, n. 9-10, p. 682-696, 2010.

PORTILHO, L., LEONARDI, G. R. The real protection of facial sunscreens. *British journal of dermatology*, v. 182, n. 4, p. 1050-1052, 2020.

PRESS, J., SIMMS, C. Segmenting cosmetic procedures markets using benefit segmentation: A study of the market for tooth whitening services in the United Kingdom. *Journal of Medical Marketing*, v. 10, n. 3, p. 183-198, 2010.

RAHROVAN, S. et al. Male versus female skin: What dermatologists and cosmeticians should know. *International journal of women's dermatology*, v. 4, n. 3, p. 122-130, 2018.

RAPHAEL, A. P. et al. Computational characterization of reflectance confocal microscopy features reveals potential for automated photoageing assessment. *Experimental dermatology*, v. 22, n. 7, p. 458-463, 2013.

REBLE, C. et al. Evaluation of detection distance-dependent reflectance spectroscopy for the determination of the sun protection factor using pig ear skin. *Journal of Biophotonics*, v. 11, n. 1, e201600257, 2018.

REBLE, C., MEINKE, M., RASS, J. No More Sunburn: Non-invasive LED-based measurement of the sun protection factor. *Optik & Photonik*, v. 13, n. 1, p. 32-35, 2018.

REYNOLDS, N. L., SIMINTIRAS, A. C., DIAMANTOPOULOS, A. Theoretical justification of sampling choices in international marketing research: Key issues and guidelines for researchers. *Journal of international business studies*, v. 34, n. 1, p. 80-89, 2003.

RHODE, A. K. The 'flower men' phenomenon: exploring the cultural encoding of masculinity in south Korean cosmetics advertising. *ACR NORTH AMERICAN ADVANCES*, 2016.

RINNERHALER, Mark, et al. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, v. 5, n. 2, p. 545-589, 2015.

RIBEIRO, D. L., SILVA, M. L. Cabra macho perfumado: análise do vt publicitário o chamado da marca de cosméticos old spice. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, v. 8, n. 2, 2017.

RUBIN, C. B., BROD, B. Natural does not mean safe—the dirt on clean beauty products. *JAMA dermatology*, v. 155, n. 12, p. 1344-1345, 2019.

SAND, J. et al. Expression of inflammasome proteins and inflammasome activation occurs in human, but not in murine keratinocytes. *Cell death & disease*, v. 9, n. 2, p. 1-14, 2018.

SARKIC, A., STAPPEN, I. Essential oils and their single compounds in cosmetics—A critical review. *Cosmetics*, v. 5, n. 1, p. 11, 2018.

SAUERMAN, K. et al. Age-related changes of human skin investigated with histometric measurements by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Research and Technology*, v.8, p. 52–56, 2002.

SAUERMAN, K. et al. Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin. *BMC dermatology*, v. 4, n. 1, s. 13, 2004.

SCHAEFER, H., LADEMANN, J. The role of follicular penetration. *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 14, n. 1, p. 23-27, 2001.

SCHEINFELD, N. S. Acne: a review of diagnosis and treatment. *P AND T*, v. 32, v. 6, s. 340, 2007.

SERPONE, N., DONDI, D., ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Inorganica chimica acta*, v. 360, n.3, p. 794-802, 2007.

SILVA, L. N. et al. Influence of botanical extracts in the texture profile of shampoo formulations. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, v. 7, n. 1, p. 7-7, 2019.

SISTO, T., BUSSOLETTI, C., CELLENO, L. Efficacy of a cosmetic caffeine shampoo in androgenetic alopecia management. II Note. *Journal of Applied Cosmetology*, v. 31, n. 1, p. 57-66, 2013.

SHENG, Z. H. O. U. Rapidly development of men' s personal care product market. *Detergent & Cosmetics*, v. 4, 2008.

SHI, Y. C., SEIB, P. A. The structure of four waxy starches related to gelatinization and retrogradation. *Carbohydrate research*, v. 227, p. 131-145, 1992.

SHIRSHIN, E. A. et al. Formation of hemoglobin photoproduct is responsible for two-photon and single photon-excited fluorescence of red blood cells. *Laser Physics Letters*, v. 15, n. 7, s. 075604, 2018.

SHUGART, H. Managing masculinities: The metrosexual moment. *Communication and Critical/Cultural Studies*, v. 5, n. 3, p. 280-300, 2008.

SKROZA, N. et al. Adult acne versus adolescent acne: a retrospective study of 1,167 patients. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, v. 11, n. 1, s. 21, 2018.

SMITH, C. et al. A novel combined experimental-numerical approach for determination of mechanical proprieties of skin in vivo. *In: 22nd IFSCC Congress*, 2002, Edinburgh. Cosmetic Science for a Global Marketplace, CD-ROM, 2002.

SMITHERS, D. W., WOOD, J. H. Xeroderma pigmentosum an attempt at cancer prophylaxis. *The Lancet*, v. 259, n. 6715, p. 945-946, 1952.

SOHN, M. et al. Calculation of the sun protection factor of sunscreens with different vehicles using measured film thickness distribution - Comparison with the SPF in vitro. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, v. 159: p. 74-81, 2016.

SOLOMON, M. R. O Comportamento do consumidor-: comprando, possuindo e sendo. Bookman Editora, 2016.

SONNEVILLE-AUBRUN, O., YUKUYAMA, M. N., PIZZINO, A. Application of nanoemulsions in cosmetics. *In: Nanoemulsions*. Academic Press, p. 435-475, 2018.

SOUIDEN, N., DIAGNE, M. Canadian and French men's consumption of cosmetics: a comparison of their attitudes and motivations. *Journal of Consumer marketing*, 2009.

SOUTHWELL, I. A., FREEMAN, S., RUBEL, D. Skin irritancy of tea tree oil. *Journal of Essential Oil Research*, v. 9, n. 1, p. 47-52, 1997.

SOUZA, R. C. R., ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. *Polímeros*, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

SOUZA, A. S. Discurso e identidade feminina na mídia impressa : a evolução da mulher no mercado de trabalho. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Letras) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências e Letras (Campus de Araraquara) – 2015 ,36 f. ; 30 cm.

SOUZA, C., CAMPOS, P. M. M. Development and photoprotective effect of a sunscreen containing the antioxidants Spirulina and dimethylmethoxy chromanol on sun-induced skin damage. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 104, p. 52-64, 2017.

SOUZA, C. et al. Radical-scavenging activity of a sunscreen enriched by antioxidants providing protection in the whole solar spectral range. *Skin pharmacology and physiology*, v. 30, n. 2, p. 81-89, 2017.

SRIVASTAVA, R., REILLY, C., RAO, B. Reflectance Confocal Microscopy for the Diagnosis and Management of Skin Diseases. *Image Guided Dermatologic Treatments*. Springer, Cham. p. 137-147, 2020.

STAFKA, K. et al. Skin cells can sense and integrate signals coming from eucalyptus extract to combat environmental insults and regenerate from within. In: *Journal of Investigative Dermatology*. S111-S111, 2019.

STEVENTON, K. Expert opinion and review article: The timing of comedone extraction in the treatment of premenstrual acne—a proposed therapeutic approach. *International journal of cosmetic science*, v. 33, n. 2, p. 99-104, 2011.

STICHER, O., HEILMANN, J., ZÜNDORF, I. *Pharmakognosie phytofarmazie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2015.

STRESE, H. et al. Application of optical methods to characterize textile materials and their influence on the human skin. *Journal of biomedical optics*, v. 6, n. 4, s. 046013, 2011.

SU, R. et al. Formulation, development, and optimization of a novel octyldodecanol-based nanoemulsion for transdermal delivery of ceramide IIIb. *International journal of nanomedicine*, v. 12, s. 5203, 2017.

SUGATA, K. et al. Confocal laser microscopic imaging of conspicuous facial pores in vivo: relation between the appearance and the internal structure of skin. *Skin Research and Technology*, v. 14, n. 2, p. 208-212, 2008.

SWAMY, M. K., SINNIHA, U. R. A Comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of Pogostemon cablin Benth.: An Aromatic Medicinal Plant of Industrial Importance. *Molecules*, v. 20, n. 5, p. 8521-8547, 2015.

TAFURO, G. et al. Evaluating Natural Alternatives to Synthetic Acrylic Polymers: Rheological and Texture Analyses of Polymeric Water Dispersions. *ACS omega*, 2020.

TAI, A., BIANCHINI, R., JACHOWICZ, J. Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. *International journal of cosmetic science*, v. 36, n. 4, p. 291-304, 2016.

TALEB, M. H. et al. Origanum vulgare L. essential oil as a potential anti-acne topical nanoemulsion—in vitro and in vivo study. *Molecules*, v. 23, n. 9, p. 2164, 2018.

TAN, J. M. et al. Histopathology and reflectance confocal microscopy features of photodamaged skin and actinic keratosis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 30, n. 11, p. 1901-1911, 2016.

TAVARES, R. S. N. et al. Skin irritation testing beyond tissue viability: fucoxanthin effects on inflammation, homeostasis, and metabolism. *Pharmaceutics*, v. 12, n. 2, p. 136, 2020.

THOMAS-AHNER, J. M. et al. Gender differences in UVB-induced skin carcinogenesis, inflammation, and DNA damage. *Cancer research*, v. 67, n. 7, p. 3468-3474, 2007.

TRIBST, L. T., SOUZA, M. P. P. F. A mudança no conceito da vaidade masculina: uma revisão bibliográfica. *Research, Society and Development*, v. 9, n.2 , p. e107922127-e107922127, 2020.

ULRICH, C. et al. Prevention of non-melanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: 24 months, prospective, case-control study. *British Journal of Dermatology*, v. 161, p. 78-84, 2009.

VALLERAND, I. A. et al. Efficacy and adverse events of oral isotretinoin for acne: a systematic review. *British Journal of Dermatology*, v. 178, n. 1, p. 76-85, 2018.

VARGAS JENTZSCH, P., CIOBOTĂ, V. Raman spectroscopy as an analytical tool for analysis of vegetable and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 29, n. 5, p. 287-295, 2014.

VERDUGO, G. B., PONCE, H. R. Gender Differences in Millennial Consumers of Latin America Associated with Conspicuous Consumption of New Luxury Goods. *Global Business Review*, S. 0972150920909002, 2020.

VIEIRA, G. S. et al. Combining sensory and texturometer parameters to characterize different type of cosmetic ingredients. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 42, n. 2, p. 156-166, 2020.

VINARDELL, M. P., MITJANS, M. Alternative methods to animal testing for the safety evaluation of cosmetic ingredients: an overview. *Cosmetics*, v. 4, n. 3, p. 30, 2017.

WALSH, T. R., EFTHIMIOU, J., DRÉNO, B. Systematic review of antibiotic resistance in acne: an increasing topical and oral threat. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 16, n. 3, p. e23-e33, 2016

WATSON, R. E. B., et al. A cosmetic 'anti-ageing' product improves photoaged skin: a double-blind, randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*, v. 161, n. 2, p. 419-426, 2009.

WEIGMANN, H.J., et al. Determination of penetration profiles of topically applied substances by means of tape stripping and optical spectroscopy: UV filter substance in sunscreens. *Journal of biomedical optics*, v. 10, n. 1, s. 014009, 2005.

WERNER, Y. L. V. A. The water content of the stratum corneum in patients with atopic dermatitis. Measurement with the Corneometer CM 420. *Acta dermato-venereologica*, v. 66, n. 4, s. 281, 1986.

WILHELM, K. P., CUA, A. B.; MAIBACH, H. I. Skin aging: effect on transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and casual sebum content. *Archives of dermatology*, v. 127, n. 12, p. 1806-1809, 1991.

WILLIAMS, A. C., et al. Molecular interactions between the penetration enhancer 1, 8-cineole and human skin. *Journal of Raman Spectroscopy: An International Journal for Original Work in all Aspects of Raman Spectroscopy, Including Higher Order Processes, and also Brillouin and Rayleigh Scattering*, v. 37, n. 1-3, p. 361-366., 2006

WLASCHEK, M. et al. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 63, n.1-3, p. 41-51, 2001.

WURM, E. M. T. et al. In vivo assessment of chronological ageing and photoageing in forearm skin using reflectance confocal microscopy. *British Journal of Dermatology*, v. 167, n. 2, p. 270-279, 2012.

ZASTROW, L. et al. The missing link—light-induced (280–1,600 nm) free radical formation in human skin. *Skin pharmacology and physiology*, v. 22, n. 1, p. 31-44, 2009.

ZASTROW, L. et al. From UV protection to protection in the whole spectral range of the solar radiation: new aspects of sunscreen development. In: *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment*. Springer, Cham, p. 311-318, 2017.

ZEEUWEN, P. L. J. M. et al. Microbiome and skin diseases. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, v. 13, n. 5, p. 514-520, 2013.

ZHU, F. Starch based Pickering emulsions: Fabrication, properties, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, v. 85, p. 129-137, 2019.

ZHU, D. C. et al. Large-Scale Beard Extraction Enhances the Cosmetic Results of Scalp Hair Restoration in Advanced Androgenetic Alopecia in East Asian Men: A Retrospective Study. *Dermatology and Therapy*, v. 10, n. 1, p. 151-161, 2020.

ZLOTOGORSKI, A. Distribution of skin surface pH on the forehead and cheek of adults. *Archives of dermatological research*, v. 279, n. 6, p. 398-401, 1987.

ZOUBOULIS, C. C., BOSCHNAKOW, A. Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland. *Clinical and experimental dermatology*, v. 26, n. 7, p. 600-607, 2001.

ZOUBOULIS, C. C. Acne and sebaceous gland function. *Clinics in dermatology*, v. 22, n. 5, p. 360-366, 2004.

ZOUBOULIS, C. C. Acne vulgaris. *Der Hautarzt*, v. 65, n. 8, p. 733, 2014.

ZOUBOULIS, C. C., JOURDAN, E., PICARDO, M. Acne is an inflammatory disease and alterations of sebum composition initiate acne lesions. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 28, n. 5, p. 527-532, 2014.

ANEXOS



USP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DE RIBEIRÃO PRETO DA USP-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Pesquisa e Desenvolvimento de produtos cosméticos para o público masculino com óleos

essenciais: caracterização da pele, eficácia clínica, perfil de consumo e influência da publicidade

Pesquisador: Victor Hugo Pacagnelli Infante

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 58368416.6.0000.5403

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.115.575

Apresentação do Projeto:

Conforme parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Conforme parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme parecer anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados novos documentos, conforme solicitado no último parecer.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram inseridos novos documentos com as correções solicitadas no último parecer:

- TCLEs: telefones corrigidos;
- Declaração de Ciência e Compromisso dos pesquisadores: timbre corrigido;

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-903

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-4213

Fax: (16)3315-4892

E-mail: cep@fcrfp.usp.br



**USP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DE RIBEIRÃO PRETO DA USP-**



Continuação do Parecer: 2.115.575

- Declaração do médico colaborador: corrigida, timbre retirado;
- Carta de encaminhamento apresentada com as devidas justificativas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP/USP) em sua 165ª reunião ordinária. Em atendimento às Resoluções vigentes, deverá ser encaminhado ao CEP/FCFRP, através da Plataforma Brasil, o relatório final da pesquisa conforme modelo de Relatório aprovado pelo CEP, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção da mesma. Informamos que, de acordo com a Resolução 466/12, item IV.5, letra d, o TCLE deve "ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada (s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha". O TCLE deve ser apresentado ao participante da pesquisa em documento impresso frente e verso e as assinaturas não devem ficar em folhas separadas do texto do TCLE.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_764361.pdf	18/05/2017 19:54:45		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_pesquisa_aversao6.pdf	18/05/2017 19:54:24	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito
Outros	cartaaocomiteaversao6.pdf	18/05/2017 19:52:06	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaocienciacompromisso.pdf	18/05/2017 19:51:30	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito
Outros	cartamedicoversao6.pdf	18/05/2017 19:51:12	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEQUESTIONARIOVERSAO6.pdf	18/05/2017 19:50:41	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECLINICOACNEVERSAO6.pdf	18/05/2017 19:50:24	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-903

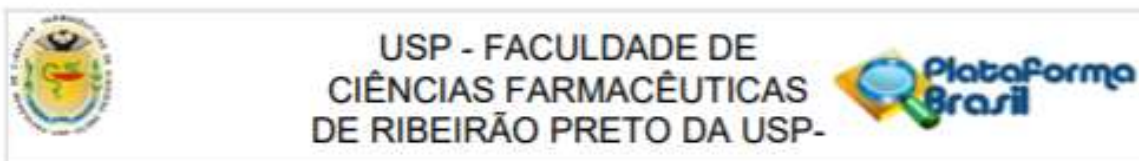
UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-4213

Fax: (16)3315-4892

E-mail: cep@fcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 2.115.575

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLÉacaocalmanteversao6.pdf	18/05/2017 19:50:01	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTOVERSAO3.pdf	18/01/2017 14:47:20	Victor Hugo Pacagnelli Infante	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 12 de Junho de 2017

Assinado por:
Cleni Mara Marzocchi Machado
 (Coordenador)

Endereço: Avenida do Café s/nº
 Bairro: Monte Alegre CEP: 14.040-903
 UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
 Telefone: (16)3315-4213 Fax: (16)3315-4892 E-mail: cep@fcrp.usp.br



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. CEP/FCFRP nº. 025/2017
kms

Ribeirão Preto, 23 de junho de 2017.

Ao pós-graduando
Victor Hugo Pacagnelli Infante
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patrícia M. B. G. Maia Campos
FCFRP/USP

Prezado Pesquisador,

Informamos que o projeto de pesquisa intitulado "PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS COSMÉTICOS PARA O PÚBLICO MASCULINO COM ÓLEOS ESSENCIAIS: CARACTERIZAÇÃO DA PELE, EFICÁCIA CLÍNICA, PERFIL DE CONSUMO E INFLUÊNCIA DA PUBLICIDADE", apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº. 416 - CAAE nº 58368416.6.0000.5403, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP/USP em sua 165ª reunião ordinária, conforme Parecer Consubstanciado do CEP nº 2.115.575.

Lembramos que, de acordo com a Resolução 466/2012, item IV.5, letra d, o TCLE deverá "ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha. Em ambas as vias deverão constar o endereço e contato telefônico ou outro, dos responsáveis pela pesquisa e do CEP local".

Informamos que deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa em formulário próprio deste Comitê, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção do mesmo, tais como eventos adversos e eventuais modificações no protocolo ou nos membros da equipe, através da interposição de emenda na Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

PROF^a. DR^a. CLENI MARA MARZOCCHI MACHADO
Coordenadora do CEP/FCFRP

ANEXO 2



Questionário de hábitos de consumo dos produtos cosméticos

Parte 1 - Perfil do entrevistado

1.1). Quantos anos você tem?

1.2). Poderia dizer com qual renda mensal você e/ou sua família se mantém? (de acordo com salário mínimo vigente – R\$880,00).

- a) até 3 salários mínimos (até R\$2640,00)
- b) 3-6 salários mínimos (entre R\$2460,00 e R\$ 5280,00)
- c) 6-10 salários mínimos (entre R\$ 5280,00 e R\$ 8800,00)
- d) acima de 10 salários mínimos (acima de R\$ 8800,00)

1.3) Qual sua cidade e estado de residência?

1.4) Escolaridade

- Fundamental incompleto
- Fundamental completo
- Ensino médio incompleto
- Ensino médio completo
- Ensino superior incompleto
- Ensino superior completo

1.5) Como você classifica seu tipo de pele?

- **Seca**
- **Mista**
- **Normal**
- **Oleosa**
- **Não sei**

Parte 2 - Hábitos de consumo

2.1) Qual a frequência aproximada de uso dos produtos abaixo?

Produto	0	1	2	3
Pasta de dente				
Desodorante/Antitranspirante				
Creme para barbear Loção pós-barba				
Perfume				
Hidratante corporal				
Hidratante facial				
Protetor Solar				
Sabonete				
Shampoo				
Condicionador				
Tintura para cabelo				
Creme para pentear				
Produto anti-queda				
Produtos para acne				
Maquiagens em geral				
Demaquilantes				
Pomada para cabelo				
Gel para cabelo				
Fixadores de cabelo				
Creme anti-idade				
Protetor labial				

2.2) Elenque a relevância das características abaixo no momento de escolha de produtos cosméticos (0-não levo em consideração/5-é muito importante para mim).

O que você procura ao comprar produtos cosméticos?	0	1	2	3	4	5
Melhora da aparência						
Higiene						
Bem-estar						
Tratamento						
Prevenção						

2.3) O que leva em consideração na hora da escolha de um produto? (0-não levo em consideração/5-é muito importante para mim).

	0	1	2	3	4	5
Marca						
Estudos clínicos comprovados						
Embalagem						
Indicação de amigos						
Responsabilidade ambiental						
Indicação médica						
Blogs de moda/cosméticos						
Publicidade						
Produto natural						
Preço						
País de origem do Produto						

2.4) Cite 3 marcas de produtos cosméticos que você costuma utilizar com mais frequência.

2.5) Quais dos problemas abaixo relacionados a aparência te incomodam?

	0	1	2	3
Calvície				
Manchas no rosto				
Odor corporal				
Linhas de expressão (rugos)				
Flacidez				
Pelos indesejáveis				
Oleosidade				
Acne				

2.6) Quanto você estaria disposto a gastar com um cosmético que promettesse solucionar as alterações que te incomodam?

- 10 a 30 reais
- 30 a 50 reais
- 50 a 70 reais
- 70 a 90 reais
- mais de 90 reais

2.7) Qual a importância de cada característica abaixo pra você, no momento de escolha de um cosmético para o rosto:

	0	1	2	3	4
Cor					
Fotoproteção					
Rápida absorção					
Toque seco – sem resíduo oleoso					
Composição					
Aroma					
Cobertura das imperfeições (manchas, por exemplo)					
Ingrediente ativo de origem natural					
Estudos clínicos de eficácia e segurança					

Parte 3 – Perfil comportamental do entrevistado

3.1) Dentre as frases abaixo, elenque de 0 a 5 o quanto elas são verdadeiras para você: (0- não concordo/não se aplica a mim; 5- concordo totalmente/se aplica totalmente a mim).

Afirmções	0	1	2	3	4	5
1) A aparência é importante para mim						
2) Sou um homem vaidoso						
3) Boa aparência está relacionada com uso de cosméticos						
4) O uso de cosméticos eleva minha autoestima						
5) Homens com boa aparência conseguem melhores vagas de emprego						
6) Acredito que a utilização de produtos cosméticos me auxilia para melhores conquistas amorosas.						
7) Prefiro comprar produtos cosméticos após uma experiência sensorial, ou seja, após sentir toque, textura, aroma, entre outras características do produto.						
8) Costumo adquirir produtos cosméticos com frequência						
9) Pesquiso sobre produtos cosméticos antes de comprar						
10) Prefiro comprar cosméticos pela internet						
11) O uso de cosméticos naturais me faz associar o produto a uma ação menos agressiva à minha pele						
12) Prefiro produtos cosméticos voltados estritamente para o público masculino						
13) Não compro produtos cosméticos, uso os que meu/minha cônjuge ou família compra e utiliza.						
14) Sinto-me inseguro ao comprar produtos cosméticos						
15) Prefiro que alguma mulher (mãe, irmã, namorada, amiga, etc) compre um produto cosmético para mim						
16) Utilizar produtos cosméticos fere minha masculinidade						
17) Acredito que o uso de cosméticos está relacionado ao público homossexual						



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A93D2A1

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A93D2A1**
 Usuário: **Patricia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos**
 CPF/CNPJ: **062.568.918-64**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Manihot esculenta

Manihot esculenta

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **Pesquisa e Desenvolvimento de produtos cosméticos a base de amidos de milho e tapioca**

Equipe

Patricia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto**
victor hugo pacagnelli infante **faculdade de ciências farmacêuticas de ribeirão preto**

Parcelas no Exterior

Charité Universitätsmedizin

Data do Cadastro: **30/04/2019 14:54:36**

Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **14:56** de **30/04/2019**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**