

Universidade Brasil – Campus Itaquera
Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

***Aplicação da Espectroscopia Raman Confocal para
Rastreamento de um Produto Cosmético pela Unha Humana no
Tratamento da Síndrome de Unhas Frágeis***

MARA REGINA PEREIRA VIANA DAMASCENO FEITOSA

Orientadora: Prof(a) Dr(a) Priscila Pereira Fávero

Coorientador: Prof. Dr. Airton Abrahão Martin

São Paulo - SP
2020

Confocal Raman Spectroscopy Application for Cosmetic Product Tracking through the Human Fingernail for the Treatment of Fragile Nail Syndrome

MARA REGINA PEREIRA VIANA DAMASCENO FEITOSA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof(a). Dr(a). Priscila Pereira Fávero

Coorientador: Prof. Dr. Airton Abrahão Martin

São Paulo – SP
2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

F336a FEITOSA, Mara Regina Pereira Viana Damasceno
Aplicação da Espectroscopia Raman Confocal para rastreamento de um produto cosmético pela unha humana no tratamento da Síndrome de Unhas Frágeis: estudo clínico randomizado / Mara Regina Pereira Viana Damasceno Feitosa -- São Paulo: Universidade Brasil, 2020.
77 f. : il.

Orientador: Profa. Dra. Priscila Pereira Fávero.
Coorientador: Prof. Dr. Airton Abrahão Martin.
Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

1. Síndrome das Unhas Fracas. 2. Espectroscopia Raman Confocal. 3. Unhas. 4. Permeação. I. Título. II. Fávero, Priscila Pereira. III. Martin, Airton Abrahão.

CDD 620.82



TERMO DE APROVAÇÃO

MARA REGINA PEREIRA VIANA DAMASCENO FEITOSA

“APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL PARA RASTREAMENTO DE UM PRODUTO COSMÉTICO PELA UNHA HUMANA NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DE UNHAS FRÁGEIS”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof.(a). Dr.(a) Priscila Pereira Fávero (presidente-orientador)

Prof.(a). Dr.(a) Ailton Abrahão Martin (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Raurys Alencar de Oliveira (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ)

São Paulo, 16 de abril de 2020

Presidente da Banca Prof(a). Dr(a) Priscila Pereira Fávero

Houve alteração do Título: sim () não (X):

TERMO DE CONFIDENCIALIDADE E SIGILO

Eu, **MARA REGINA PEREIRA VIANA DAMASCENO FEITOSA**, brasileiro(a), inscrita(o) no CPF/MF sob o nº498.036.703-87, abaixo firmado, assume o compromisso de manter confidencialidade e sigilo sobre todas as informações técnicas e outras relacionadas ao desenvolvimento do projeto “**Aplicação da Espectroscopia Raman Confocal para Rastreamento de um Produto Cosmético pela Unha Humana no Tratamento da Síndrome de Unhas Frágeis**”, do qual sou convidado(a) da banca da dissertação.

Por este termo de confidencialidade e sigilo compromete-se:

- A não utilizar as informações confidenciais a que tiver acesso, para gerar benefício próprio exclusivo e/ou unilateral, presente ou futuro, ou para o uso de terceiros;
- A não efetuar nenhuma gravação ou cópia da documentação confidencial a que tiver acesso, relacionado ao projeto acima mencionado;
- A não apropriar-se para si ou para outrem de material confidencial e/ou sigiloso que venha a ser disponível através do projeto ora mencionado;
- A não passar o conhecimento das informações confidenciais, responsabilizando-se por todas as pessoas que vierem a ter acesso às informações, por seu intermédio, e obrigando-se, assim, a ressarcir a ocorrência de qualquer dano e prejuízo oriundo de uma eventual quebra de sigilo das informações fornecidas.

Neste Termo, as seguintes expressões serão assim definidas:

Informação Confidencial: significará toda informação revelada através da apresentação da tecnologia, a respeito de, ou, associado com a Avaliação, sob a forma escrita, verbal ou por quaisquer outros meios.


Informação Confidencial: inclui, mas não se limita, à informação relativa às operações, processos, planos ou intenções, informações sobre produção, instalações, equipamentos, segredos de negócios, segredo de fábrica, dados, habilidades especializadas, projetos, métodos e metodologia, fluxogramas, especializações, componentes, fórmulas, produtos, amostras, diagramas, desenhos de esquema industrial, patentes, oportunidades de mercado e questões relativas a negócios revelados do projeto supra mencionada.

Avaliação: significará todas e quaisquer discussões, conversações ou negociações entre, ou com as partes, de alguma forma relacionada ou associada com a apresentação do projeto, acima mencionado.

A vigência da obrigação de confidencialidade e sigilo, assumida pela minha pessoa por meio deste termo, terá a validade enquanto a informação não for tornada de conhecimento público por qualquer outra pessoa, ou mediante autorização escrita, concedida à minha pessoa pelas partes interessadas neste termo.

Pelo não cumprimento do presente Termo de Confidencialidade e Sigilo, fica o abaixo assinado ciente de todas as sanções judiciais que poderão advir.

São Paulo, 16 de abril de 2020.


Assinatura

Dedico a meu DEUS, que me deu forças quanto pensei em desistir e a todos que direta ou indiretamente fizeram parte dessa luta. Minhas irmãs queridas: Magda, Maria do Carmo e Márcia. Ao Meu esposo e filhos agradeço pela compreensão. Obrigada a todos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus pelo dom da vida e por nunca ter me abandonado nos momentos mais difíceis. Agradeço aos meus pais Antônio A. Viana (in memorian), Gerarda P. Viana (in memorian) meu irmão Marcelus Antônio (in memorian) pelo tempo que passamos juntos e pelo apoio. Ao meu marido que me incentivou todos os dias a não desistir, por cuidar dos nossos filhos enquanto estava estudando.

A professora Dra. Priscila Pereira Fávero pela atenção e por todos os ensinamentos e palavras positivas que ajudaram durante todo esse tempo de pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a construção desse trabalho.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

A síndrome das unhas frágeis apresenta alta prevalência nos consultórios médicos e a adesão ao tratamento com produtos fortificantes é ainda um desafio, uma vez que, na cultura brasileira, existe o costume de se esmaltar as unhas semanalmente. Neste contexto, o presente trabalho possui o objetivo de aplicar a Espectroscopia Raman Confocal para determinar a capacidade de um produto fortalecedor de unhas permear pelo esmalte com uma e duas camadas e atingir a unha, permitindo o tratamento da síndrome de unhas frágeis em unhas esmaltadas. Para isso, foram selecionados 05 (cinco) participantes, entre homens e mulheres, com idade de 19 a 55 anos. A permeação do produto foi medida em unha virgem, com uma e duas camadas de esmalte. O produto foi depositado após uma hora da aplicação do esmalte e a permeação foi medida após uma hora da deposição do produto. Foi observado que o produto permeia pelo esmalte e penetra na unha em aproximadamente 18 μm . Também foi possível detectar a presença dos principais componentes deste produto em até aproximadamente 18 μm de profundidade na unha. Portanto, o produto atravessa a camada de esmalte e permeia na unha facilitando o tratamento em unhas esmaltadas. Este resultado torna-se promissor pois prevê uma maior adesão de pacientes com a patologia ao tratamento. A permeação em unha virgem mostra-se cinco vezes superior à unha esmaltada com uma e duas camadas, o que comprova uma boa permeação do produto. Desta forma, a Espectroscopia Raman Confocal trará subsídios para a indústria cosmética por sustentar a capacidade de um produto permear a camada de esmalte e tratar a unha.

Palavras-chave: Síndrome das unhas fracas, Espectroscopia Raman Confocal, unhas, permeação.

ABSTRACT

Fragile nail syndrome has a high prevalence in medical offices and adherence to treatment with fortifying products is still a challenge, since, in Brazilian culture, there is a custom of fading nails weekly. In this context, the present work aims to apply Confocal Raman Spectroscopy to determine the ability of a nail-strengthening product to permeate through enamel with one and two layers and reach the nail, allowing the treatment of syndrome of fragile nails on enameled nails. For this, 05 (five) participants were selected, between men and women, aged 19 to 55 years. The permeation of the product was measured in virgin nail, with one and two layers of enamel. The product was deposited after one hour of enamel application and permeation was measured after one hour of product deposition. It was observed that the product permeates enamel and penetrates the nail up to approximately 18 μm . It was also possible to detect the presence of the main components of this product at approximately 18 μm depth in the nail. Therefore, the product crosses the enamel layer and permeates the nail facilitating the treatment in enameled nails. This result becomes promising because it provides for greater adherence of patients with pathology to treatment. The permeation in virgin nail is shown five times higher than the enameled nail with one and two layers, which proves a good permeation of the product. In this way, Raman Confocal Spectroscopy will bring subsidies to the cosmetic industry for sustaining the ability of a product to permeate the enamel layer and treat the nail.

Keywords: Weak nail syndrome, Confocal Raman Spectroscopy, nails, permeation.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Através da pesquisa, foi possível medir a quantidade do produto que permeou na unha ultrapassando as camadas de esmaltação, sendo elas, em uma ou duas camadas. Observou-se que a permeação é quase 100% em unhas não esmaltadas e, a medida que se esmalta, a permeação tende a diminuir. Portanto, conforme era esperado, a presença do esmalte diminui o poder de permeação do produto. Verificou-se também, que para uma camada de 10 μ m de esmalte a permeação foi de 80% em relação à unha virgem. Para camadas mais espessas de esmalte, esta capacidade de permeação diminuiu, ou seja, a quantidade de produto é inversamente proporcional à espessura do esmalte. Segundo o ajuste linear destes dados, a permeação na unha tende a zero quando o esmalte possuir uma espessura superior a 78 μ m.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Anatomia da Unha.....	19
Figura 2: Inervação das mãos dedos e unhas	21
Figura 3 Traquioníquia: perda de coesão dos onicócitos da lâmina ungueal.....	24
Figura 4: Pterígio ungueal dorsal – líquen plano.....	25
Figura 5: Líquen plano ungueal.....	25
Figura 6: Líquen plano macroscopicamente.....	26
Figura 7: Hiperplasia melanocítica da unha.....	26
Figura 8: Hiperplasia melanocítica na unha macroscopicamente.....	27
Figura 9: Psoríase ungueal.....	27
Figura 10: Síndrome de unhas frágeis.....	28
Figura 11: Alterações nas unhas e patologias relacionadas.....	30
Figura 12: Incidência de luz monocromática.....	33
Figura 13: Espectro Raman da unha humana.....	34
Figura 14: Regiões de Energia.....	34
Figura 15: Regiões de Energia.....	35
Figura: 16: Região de estudo e aplicação do produto na unha	39
Figura 17: Resultado da análise hierárquica de cluster do conjunto de espectros para uma amostra com uma camada de esmalte e tratada com o produto, com o propósito de exemplificar a identificação de interfaces.....	42
Figura 18: Taxa de penetração do produto na unha em função da espessura do esmalte aplicado.....	43
Figura 19: Espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de baixa frequência (400 a 1800 cm ⁻¹).....	44
Figura 20: Espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de alta frequência (2520 a 4000 cm ⁻¹).....	45
Figura 21: Segunda derivada dos espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de 950 a 1150 cm ⁻¹	46
Figura 22: Segunda derivada dos espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de alta frequência (2520 a 4000 cm ⁻¹).....	46

Figura 23: Espectros Raman característicos de uma unha tratada com o produto, em função da profundidade (de 0 a 200 μm).....	47
Figura 24: Espectros Raman característicos de uma unha com uma camada de esmalte e tratada com o produto, em função da profundidade (de 0 a 82 μm)....	48
Figura 25: Espectros Raman característicos de uma unha com duas camadas de esmalte e tratada com o produto, em função da profundidade (de 0 a 82 μm).....	49
Figura 26: Dependência da intensidade do produto, em função da profundidade do esmalte e da unha, medida em amostra virgem, com 1 camada de esmalte e com 2 camadas de esmalte.....	50
Figura 27: Regiões espectrais características da presença de cada produto em comparação com as unhas tratadas e não-tratadas, mostrando superposição de dois componentes.....	52
Figura 28: Região espectral característica do componente P em 998 cm^{-1}	53
Figura 29: Região espectral mostrando o componente P no esmalte e unha.....	54
Figura 30: Cálculo do perfil de permeação do componente P para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.....	55
Figura 31: Comparação da permeação do componente P em unhas com duas camadas de esmalte, como uma função do tempo de deposição e da espessura das camadas de esmalte.....	56
Figura 32: Assinatura espectral do componente G em 1142 cm^{-1}	57
Figura 33: Cálculo do perfil de permeação do componente G para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.....	57
Figura 34: Região espectral característica do componente J.....	58
Figura 35: Cálculo do perfil de permeação do componente J para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.....	58
Figura 36: Região espectral característica do componente J.....	59
Figura 37: Cálculo do perfil de permeação do componente L para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.....	60
Figura 38: Dependência da intensidade do produto medida pela segunda derivada do pico 1065 cm^{-1} , em relação a profundidade, para as amostras tratadas de diversas formas.....	61

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Picos característicos do esmalte puro, produto puro e unha virgem.....	45
Tabela 2: Picos característicos do esmalte puro, produto puro, ativos e unha virgem.....	51

LISTA DE SIGLAS

CCD	Charge Coupled Device
SUF	Síndromes de Unhas Frágeis
ERC	Espectroscopia Raman Confocal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Objetivos.....	18
1.1.1 Objetivo Geral	18
1.1.2 Objetivos Específicos.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Anatomia da Unha.....	19
2.2 Funções das unhas	22
2.3 Patologias das unhas.....	22
2.4 A Espectroscopia Raman Confocal.....	31
2.4.1 Efeito Raman	31
2.4.2 Raman em tecidos biológicos unha.....	33
3 PROPOSIÇÃO OU JUSTIFICATIVA.....	37
4 METODOLOGIA.....	38
4.1 Tipo de estudo e seleção de participantes.....	38
4.2 Grupo e análise por ERC.....	39
4.3 Processamento do Sinal Raman.....	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1 Assinaturas Espectrais.....	50
7 CONCLUSÃO..	64
REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

As unhas fazem parte do sistema tegumentar como um anexo. Elas são compostas pelas seguintes camadas básicas que são: a matriz ungueal, a lâmina ungueal, as pregas ungueais laterais e proximal também chamada de eponíquio ou cutícula, que corresponde a junção da unha com a pele; e a região do hiponíquio que fica abaixo da borda livre da unha, e indica a junção desta com a epiderme normal dos dedos. A matriz ungueal como diz o nome é o local onde encontra-se o epitélio germinativo capaz de produzir células que formam a lâmina ungueal. Na porção proximal também há uma área leitosa em formato de meia lua, por isso denominada de lúnula (SANTOS, 2015).

Muitas são as patologias que podem acometer as unhas, deixando-as frágeis, quebradiças e conferindo-lhes uma aparência ruim. A lâmina ungueal é a parte da unha que mais é acometida por essas doenças e ela revela que algo está errado com a saúde do paciente. As alterações mostradas na lâmina ungueal tem seu início na matriz ungueal, podendo ser de nível sistêmico ou local. É importante que seja realizado um exame físico detalhado para se estabelecer um diagnóstico preciso. As patologias evidenciadas pela coloração e aspecto das unhas a nível sistêmico, podem ser por: diabetes, HIV, hipotireoidismo ou hipertireoidismo, as lesões psoriáticas (pacientes com psoríase), unhas amareladas em pacientes com problema de pulmões e rins, unhas com pontos avermelhados que podem estar relacionados a problemas circulatórios, etc.; ou a nível local como: líquen plano, onicomicoses, traquinóquia, onicorrexe e onicosquízia e a síndrome de unhas frágeis (KERKHOF et. al., 2005).

A síndrome das unhas frágeis (SUF) é uma das patologias que mais acomete o indivíduo tanto do sexo feminino quanto do masculino. Ela é caracterizada pelo aumento da fragilidade das lâminas ungueais que se apresentam ressecadas, quebradiças, fracas ou “lascadas”, além de interferir também no crescimento, tanto de unhas das mãos, como nas unhas dos pés; e apresenta duas características marcantes que são a onicosquízia e a onicorrexe. A SUF afeta quase 20% da população geral, sendo mais comum em mulheres (KERKHOFF, et. al. 2005; BRITTLE, 2003; COLOMBO, et. al. 1990).

Na maioria dos casos de SUF, a causa é idiopática, ou seja, sem causa aparente, mas pode ser também secundária a doenças dermatológicas (pterígio,

líquen plano) ou sistêmicas (psoríase, hipotireoidismo, diabetes, anemias, dentre outras), além de poder ser resultado de deficiências nutricionais, tratamentos com medicamentos e fatores ocupacionais, quando há contato frequente com água e produtos químicos. Existem vários agentes catalisadores da SUF. A exposição a agentes químicos (solventes, ácidos, sais, etc.), alguns cosméticos contendo formaldeído, a presença de fungos e traumas repetitivos (por exemplo, com a digitação frequente), podem influenciar na adesão intercelular dos onicócitos e iniciar a SUF (COSTA; NOGUEIRA; GARCIA, 2007).

Existem muitas opções de tratamento para a SUF, onde inclusive a medicação oral também pode ser utilizada; como é confirmado que a tomada diária de peptídios bioativos de colágeno na quantidade de 2,5 g por no mínimo seis meses pode melhorar consideravelmente o aspecto de ressecamento, e redução de 42% na quebra das unhas (HEXSEL, et al., 2017).

Porém, mesmo com o tratamento oral a longo prazo, ainda existem opções mais eficazes para o tratamento das unhas frágeis, de forma local, evitando assim, as interações medicamentosas e os efeitos indesejados pelo longo tempo de tomada da medicação oral (SHERBER, et al., 2011).

No tratamento da SUF, devem ser adotadas medidas preventivas, protetoras e sintomáticas para evitar a desidratação da lâmina ungueal. Associada a essas medidas gerais, usualmente é recomendada a aplicação de produtos fortalecedores e reparadores que tragam ação hidratante, com capacidade de restabelecer a composição e estrutura das unhas, como a biotina, que é uma vitamina do complexo B (B7), fundamental para o corpo, pois, ajudam a produzir glóbulos vermelhos, que são importantes para a saúde da pele, cabelos e unhas. Também é indicado adotar novos hábitos que agridam menos as unhas, como o aumento do intervalo sem esmaltar, não remover a cutícula, optar pelo uso de produtos menos agressivos e sem acetona. As restrições que o tratamento impõe podem impactar na qualidade de vida da mulher, pois, culturalmente elas são as que mais adotam medidas de embelezamento das unhas, principalmente para o trabalho (CASHMAN, 2010).

Desta forma, o presente trabalho apresenta a motivação de aplicar a Espectroscopia Raman Confocal (ERC) para determinar a capacidade de um produto fortalecedor de unhas permear pelo esmalte, com uma e duas camadas e atingir as lâminas ungueais, permitindo o tratamento da SUF em unhas esmaltadas. A ERC é uma técnica precisa e sensível que utiliza uma luz monocromática, coerente e

colimada que incide sobre uma matéria e através de um espectrômetro é capaz de captar moléculas em vibração, gerando assim, picos espectrais visualizados através de um monitor de computador. Na Espectroscopia Raman não há necessidade de se preparar a amostra e se houver a presença de água, não interfere na apresentação do espectro. A intensidade do espectro ou banda é diretamente proporcional a concentração da matéria (PONS, 2017). O estudo da matéria é em escala molecular, e pode auxiliar nesse caso, na caracterização da permeação e eficácia de produtos cosméticos em pele, além de poder ser realizada *in vivo* (CARSPERS, et. al., 1999; PEREIRA, 2015; TEIXEIRA, 2014; TELLEZ, et. al. 2015), cabelos (KUZUHARA, 2005; KUZUHARA, 2006; PANDE, 1993; PUDNEY, 2013) e unhas (ALI, 2008; CUMMINS, 2010; GNIADHECKA, et.al., 1998; SHIN, 2017; WILLIAMS; EDWARDS; BARRY, 1994).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

- Avaliar a permeação de um produto cosmético pela unha humana por meio da Espectroscopia Raman Confocal.
-

1.1.2 Objetivos Específicos

- Medir comparativamente por Espectroscopia Raman Confocal, a permeação de um produto em unhas previamente esmaltadas ou não esmaltadas.
- Verificar se o produto permeia pelo esmalte atingindo a unha.
- Observar se o produto após ultrapassar pelo esmalte permeia pela unha.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia da Unha

A unha é um anexo cutâneo que faz parte do sistema tegumentar do indivíduo e está localizada nas falanges, garantindo a proteção das pontas dos dedos e evitando traumas locais. São consideradas como lâminas finas chamadas de córnea, pois, faz contato com a camada córnea da epiderme e está desprovida de vasos sanguíneos e inervações (MURDAN, 2016). A lâmina ungueal se superpõe à face dorsal de todas as falanges distais dos dedos das mãos e dos pés, e pode crescer cerca de 2 mm a 4,5 mm por mês, onde nos pés elas demoram cerca de seis meses para a renovação total da unha (KERKHOFF et. al., 2005).

É uma estrutura rica em queratina, especificamente a alfa-queratina que é especialmente mais dura e rígida que a pele. A queratina possui altas concentrações de enxofre e um alto teor de ligações dissulfeto que é a cistina; o que lhe confere a barreira semipermeável e evita patologias principalmente a nível local. O enxofre representa 10% do peso seco da unha, enquanto o cálcio representa de 0,1 a 0,2%. Comparado ao estrato córneo da pele, a unha possui menos lipídeos (0,1 a 1% contra 10%) e menos água (7 a 12% contra 15 a 25%). Em condições normais a melanina não está presente na matriz ungueal, mas, por ocasião de trauma na prega ungueal proximal, pode levar a ativação dos melanócitos, apresentando pigmentos escuros na lâmina ungueal (IORIZZO, 2015).

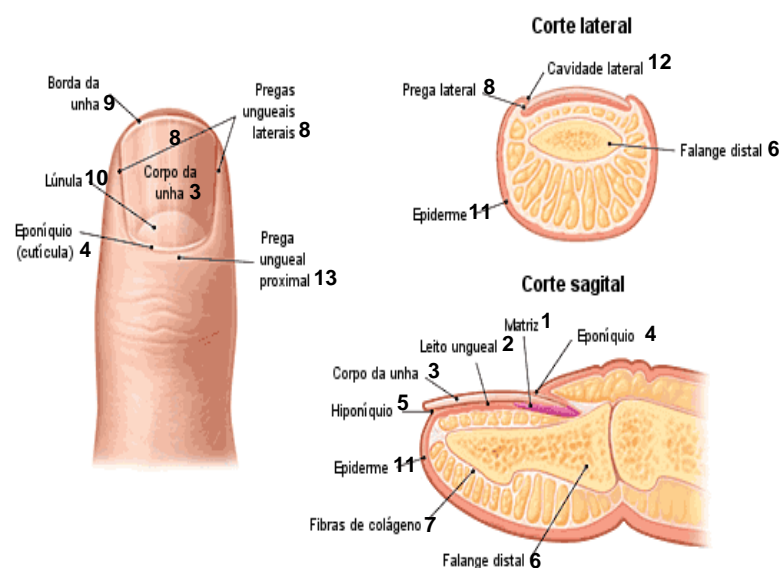


Figura 1: Anatomia da Unha - (COSTA,2008)

Segundo Costa (2008), a unha é composta por componentes da unidade ungueal, que serão abaixo relacionados:

1. Matriz ungueal, que é a porção geradora da unha e seus componentes;
2. Leito ungueal – fica abaixo da lâmina ungueal e apresenta duas camadas, sendo a epiderme e a derme. A derme é diretamente ligada ao periósteo da falange distal do dedo e é muito vascularizada. Nela também existem terminações nervosas, como corpúsculo de Meissner e terminações de Merkel.
3. Lâmina ungueal, também chamada corpo da unha; e é produto da queratinização da matriz ungueal;
4. Eponíquio – também chamado de cutícula, derivada da prega ungueal proximal,
5. Hiponíquio, derivado do epitélio do leito ungueal; pé a junção da epiderme com o início da borda livre da unha;
6. Falange óssea distal – dá suporte a toda estrutura de dedo e unhas;
7. Fibras de colágeno – estrutura molecular que reveste toda a estrutura óssea
8. Pregas ungueais laterais – que formam as cavidades laterais a lâmina ungueal.
9. Borda livre – representa o crescimento da unha ao longo dos dias. Sofre a ação do ar por isso se mostra esbranquiçada.
10. Lúnula – está localizada na parte proximal da lâmina ungueal e apresenta-se como uma meia-lua de coloração esbranquiçada.
11. Epiderme - parte superficial da pele humana.
12. Cavidade lateral - parte da unha onde ficam as pregas laterais.
13. Prega ungueal proximal – em junção com a pele forma o eponíquio.

O formato da unha mostrado pela lâmina ungueal é definida de acordo com alguns parâmetros que são variáveis de pessoa para pessoa, que podem ser: a forma como a lâmina ungueal se apresenta, a convexidade da unha, o contorno da extremidade distal, a horizontalidade da lâmina ungueal e a espessura da mesma. (COSTA, 2008).

Quanto à vascularização da ponta dos dedos e especificamente das unhas ou da matriz ungueal é composta por uma rica rede derivada de anastomoses arteriovenosas no leito ungueal e das artérias digitais. Existem dois arcos arteriais principais chamados proximal e distal dos dedos formados por anastomoses dos ramos das artérias digitais. Essa irrigação também exerce a função de auxiliar na regulação térmica da área (MARIEB, 2009).

A inervação das unhas, nas matrizes ungueais de cada dedo, é realizada pelos ramos dos nervos digitais. A unidade ungueal na palma e no dorso da mão do quinto e da metade medial do quarto dedos recebem inervação sensitiva pelo nervo ulnar. O restante da inervação se faz por meio do nervo mediano e do nervo radial, onde inervam a porção palmar e dorsal dos primeiro, segundo e terceiro dedos, conforme figura 2 abaixo representada (APPLEGATE, 2012).

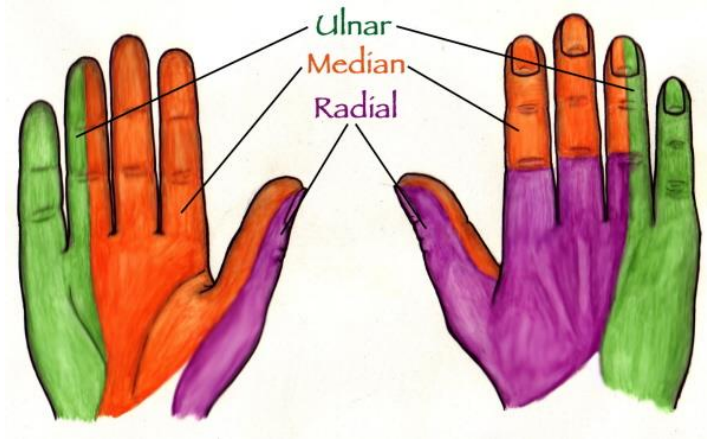


Figura 2 - Inervação das mãos, dedos e unhas – (VAN DE GRAFF, 1991).

O contato da epiderme com as unhas a partir da prega ungueal proximal e pregas laterais, representa o eponíquio que apresenta epitélio cornificado, por ser da camada córnea. A camada córnea desse epitélio constitui o que se chama de cutícula, que é uma barreira, responsável pela proteção contra micro-organismos ou umidade que possam adentrar às unhas. A matriz ungueal é originada de um epitélio germinativo, que é uma camada espessa, que se volta para baixo e para a porção proximal da unha. O epitélio germinativo é capaz de produzir células responsáveis pelo crescimento das unhas constantemente (JUNQUEIRA, 2004; WALTERS, 2019)

A parte visível da matriz ungueal é chamada de lúnula, que leva esse nome por assemelhar-se a uma meia lua. Na matriz ungueal pelo contato da epiderme com a derme há uma pequena quantidade de melanócitos sendo estes pouco desenvolvidos. Apresentam localização suprabasal e basal, e isso pode ser consequência da expressão de moléculas de adesão no epitélio ungueal. A matriz ungueal é dividida em três zonas que são: a distal, a intermediária e a proximal; sendo que a lúnula está nessa porção; e é a parte visível dessa matriz ungueal (MAGALHÃES, 2003; PEREIRA et. al., 2015).

O epitélio do leito ungueal repousa abaixo da lâmina ungueal, e é limitado distalmente pelo hiponíquio e proximalmente pela matriz ungueal. Ele não apresenta células granulosas, é relativamente fino e, nos cortes sagitais, contém poucas células paraceratóticas, que é um processo anormal de maturação de células epiteliais ocasionando um processo incompleto de queratinização desse epitélio, o que pode ser proveniente de uma injúria física, química ou biológica. O hiponíquio apresenta camada de células granulosas e camada córnea espessa e compacta. A derme é

altamente vascular e é suprida por artérias digitais. Existem numerosos corpos glômicos, que são estruturas neuromioarteriais e shunts arteriovenosos que regulam a temperatura dos dedos. Troncos e terminações nervosas são também numerosos. A derme repousa diretamente sobre a falange distal, sem interposição de tecido celular subcutâneo. Acredita-se que cerca de 80% da lâmina da unha é produzida pela matriz ungueal com a produção de queratina dura. Os outros 20% da lâmina seriam produzidos pelo leito ungueal (WALTERS, 2019).

2.2 Funções das Unhas

Geneticamente, as unhas evoluíram de garras de aves e répteis e dos cascos de mamíferos inferiores. Elas também têm função de pinças ou preensão e apresentam-se de diversas formas e tamanhos, além de mostrar evidências de como está a saúde do indivíduo, mostrando patologias a nível local ou até alterações que sugiram patologias sistêmicas (SCHER, 2003).

Por serem lâminas epidérmicas, queratinizadas, presentes nas extremidades dos dedos, pode-se, através delas, ter a capacidade de exercer movimentos precisos, suaves e até a pressão com os dedos para executar movimentos finos, como tocar levemente a tela de um celular, em um teclado de um computador, sem que haja a danificação dos mesmos e sem que ocorra traumas maiores nas pontas dos dedos (COSTA,2008).

O leito ungueal também contribui para aumentar a sensibilidade das pontas dos dedos ao pressionar contra uma superfície rígida; por isso é importante para realizar a manipulação de pequenos objetos com mais habilidade. Com a ausência das unhas fica difícil a preensão desses objetos e a sensibilidade da área torna-se reduzida, chegando a diminuir cerca de 50%. As unhas servem também para arranhar, sendo utilizadas como meio para defesa do indivíduo, e são ainda consideradas, atualmente, um importante alvo para a cosmética (JOHNSON, 2010).

2.3 Patologias frequentes em unhas

Algumas patologias podem ser percebidas pelas unhas, caracterizando-se como doenças locais, ou até doenças sistêmicas. É importante conhecer os hábitos

de vida de cada paciente para que se possa estabelecer um parâmetro correto para o diagnóstico das patologias ungueais. Algumas delas serão mostradas através de cortes histopatológicos visualizados microscopicamente, mas, as alterações visualizadas macroscopicamente são necessárias para se realizar um diagnóstico preciso e diferencial (CARVALHO, 2011; JUNQUEIRA, 2004).

Existem alguns fatores que podem contribuir para déficit do crescimento das unhas, bem como aqueles que pode facilitar o aparecimento de patologias tais como: a idade, o frio, a má nutrição ou desnutrição, os traumas repetidos das pontas dos dedos, através das digitações em computadores, a onicofagia, que é o ato de roer as unhas frequentemente, a deficiência de vitaminas A, B, C, D , e proteínas; e também a circulação deficiente da área das unhas (KERKHOF, et. al. 2005).

O uso indiscriminado de produtos inapropriados pode levar a alterações físico-químicas na estrutura ungueal que deixam as unhas desidratadas e quebradiças, levando ao aparecimento da SUF. A unha, nesses casos pode demorar de 4 a 5 meses para se regenerar por completo quando há perda total da lâmina ungueal (IORIZZO, 2015; REBELO, 2019).

Porém, apesar de todos os cuidados dispensados às unhas, especificamente pelas mulheres, ainda se tem muitos problemas relacionados a unhas quebradiças, ressecadas, danificadas, etc. Os produtos comercializados utilizam-se de tecnologias baratas e que aumentam os problemas, gerando lesões de difícil tratamento e controle. Por esse motivo, os consultórios de dermatologias atendem com muita frequência pessoas em busca de um tratamento eficaz para doenças locais nas unhas como: onicomicoses, traquioníquia, psoríase ungueal, líquen plano, e a SUF, que é a responsável pelo desenvolvimento da pesquisa; além de outras que foram descritas (ADIGUN, 2017; ISENMANN, 2015).

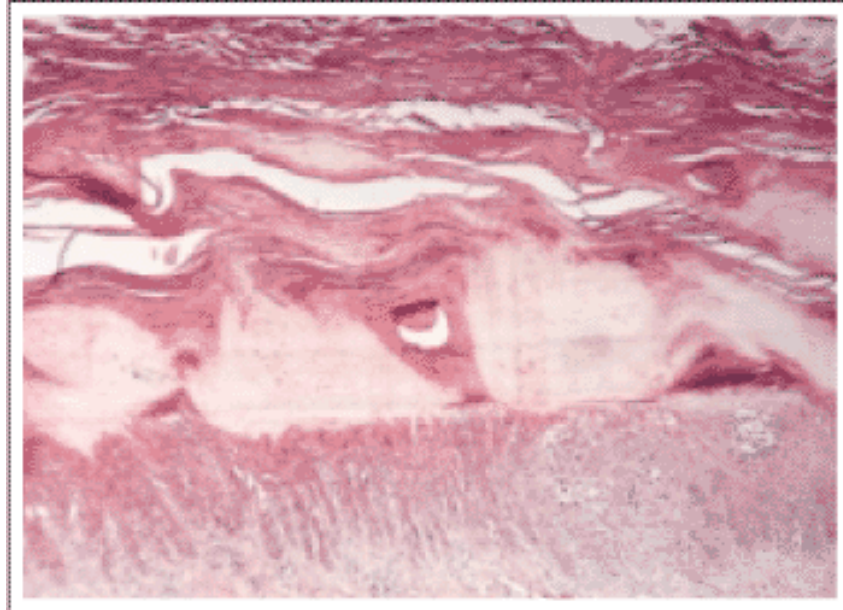


Figura 3: Traquioníquia: perda de coesão dos onicócitos da lâmina ungueal (MAGALHÃES, 2003).

A primeira doença a ser descrita é a traquioníquia que acomete as unhas e desenvolve no leito ungueal ocasionando a opacidade e a aspereza que podem ocorrer tanto na psoríase ungueal, na dermatite atópica, na alopecia areata como também no líquen plano. Há uma perda na coesão das células da unha, chamada de onicócitos que fazem parte da lâmina ungueal. Ela pode se mostrar de forma isolada; em uma única unha ou em todas as unhas, tanto de mãos quanto de pés, podendo ser chamada de distrofia de vinte unhas, quando acomete todas as unhas de mãos ou pés. A alopecia areata que também é característica da traquioníquia, pode vir antes ou após a queda de cabelos e cerca de 50% das crianças e até 20% dos adultos podem apresentar essa patologia (MAGALHÃES, 2003 ; ADIGUN, 2017).



Figura 4: Pterígio ungueal dorsal – líquen plano – (MAGALHÃES, 2003).

O pterígio ungueal é muito sugestivo de líquen plano e mostra-se com diminuição do tamanho ou praticamente perda total da lâmina ungueal. Na figura 4 percebe-se macroscopicamente, que o hálux praticamente não tem unha, o que sugere essa patologia. Ele pode se apresentar-se também com a onicorrexe que é o aparecimento de fissuras e sulcos longitudinais e aspecto fragmentado da borda livre da unha e que também é característica da SUF. O tratamento deve ser precoce para evitar o trauma maior. Em casos graves podem levar a anoníquia que é a ausência de lâmina ungueal (LOUREIRO,2008).

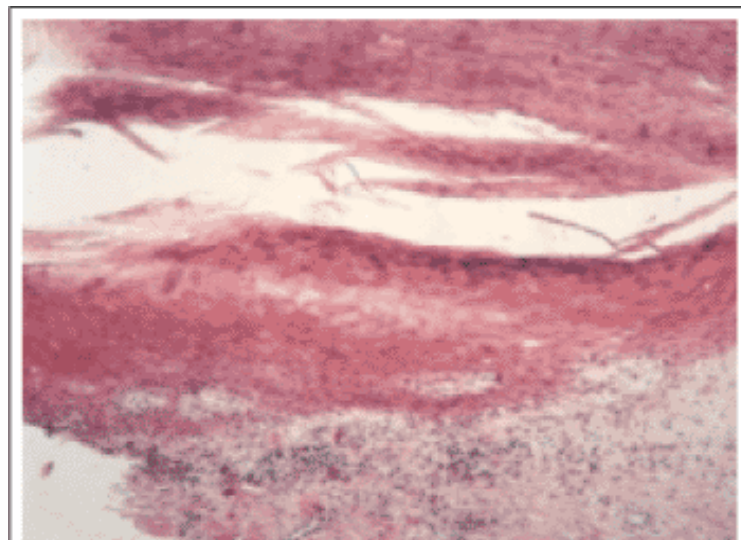


Figura 5: Líquen plano ungueal – (MAGALHÃES, 2003)

Essa condição de líquen plano, visualizada de forma microscópica (figura 5), e macroscópica (figura 6), pode levar a cicatrizes grandes nas unhas. Se não houver um tratamento adequado, há uma fibrose da matriz ungueal com aparecimento de dor local, ressecamento e listas verticais em toda a extensão da unha. Geralmente o tratamento é feito com a aplicação tópica de corticóides ou administração do medicamento de forma sistêmica (LOUREIRO, 2008).



Figura 6 – Líquen plano (NAKAMURA,2017)

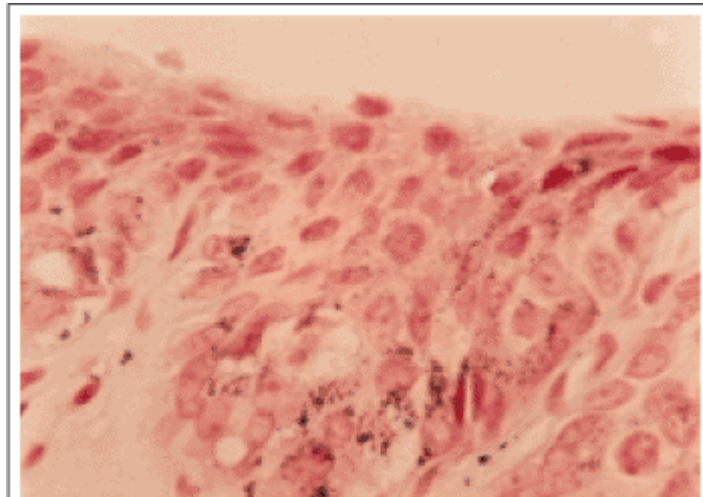


Figura 7: Hiperplasia melanocítica da unha – (MAGALHÃES, 2003)

Na hiperplasia melanocítica da unha, representada pelas figuras 7 e 8 ocorre um aumento dos melanócitos que são células que produzem melanina, ocasionando estrias hiperpigmentadas nas unhas que podem se estender desde a dobra ungueal proximal e cutícula até a borda livre da lâmina ungueal. É frequente em indivíduos da

raça negra e muitas vezes não tem necessidade de tratamento. Muitas dessas estrias pigmentadas pode ter como causa base a gravidez, traumas frequentes, doença de Addison, hiperpigmentação pós-inflamatória e uso de alguns medicamentos, como psoralenos, doxorrubicina e fluoruracila (MAGALHÃES, 2003).



Figura 8 - Hiperplasia melanocítica da unha (DEL ROSSO, 2012)



Figura 9 – Psoríase ungueal com onicólise e onicorrexe (DEL ROSSO, 2012)

A psoríase ungueal representada na figura 9, também pode estar presente nas unhas, apesar de ser uma doença com alterações sistêmicas e pode levar a fragilidade da unha além de perda de parte da borda livre da unha, tornando-as frágeis. Pode ocasionar uma alteração chamada onicomadese que é o desprendimento da parte da lâmina ungueal na porção proximal, e também a onicolise que é o desprendimento de parte da lâmina ungueal na porção distal da unha. A doença pode causar engrossamento, depressões no leito ungueal e descolamento na unha. Ficam como espaços esbranquiçados dando uma aparência de unhas com micoses (LOUREIRO, 2008).



Figura 10: Síndrome de Unhas Frágeis com onicorrexe e onicosquízia – (ORASMO, 2017).

E a Síndrome de unhas Frágeis (SUF) que é o objetivo do estudo que apresenta duas características importantes e marcantes que são: a onicorrexe e a onicosquízia, ambas provocando uma aparência de desidratação, opacidade além de rachaduras e perda de boa parte da lâmina ungueal. Na figura 10, pode-se perceber que a unha apresenta-se com fissuras e sulcos longitudinais (onicorrexe) e separada em camadas e com descamação da borda livre (onicosquízia), descritas anteriormente. As patologias referidas anteriormente também, apresentam características que podem levar a um aumento da fragilidade das unhas, daí a importância de referenciá-las (LOUREIRO, 2008; COSTA, 2007)

A Síndrome das Unhas Frágeis (SUF) é uma anormalidade heterogênea, caracterizada por aumento da fragilidade da lâmina ungueal. É uma das patologias mais frequentes em se tratando doença ungueal que os dermatologistas tratam nos consultórios. Essas lesões podem indicar um problema cosmético significativo de difícil tratamento e de certa forma muito doloroso. As unhas frágeis prejudicam as atividades do dia-a-dia, e podem trazer um impacto negativo para os pacientes no trabalho, além de comprometimento das habilidades profissionais do indivíduo. Alguns estudos relatam o malefício do uso constante de esmaltes, e outros produtos que podem causar o enfraquecimento das unhas (KERKHOF et. al., 2005).

No tratamento da SUF deve-se levar em consideração que para o melhoramento do ressecamento, faz-se necessário afastar os fatores que causam essa degradação e utilizar-se de produtos nutricêuticos, que são produtos naturais, que tem sido frequentemente recomendados e que apresentam bons resultados (COSTA; NOGUEIRA; GARCIA, 2007).

A hidratação da lâmina ungueal pode mudar com a mudança nas estações do ano. Para profissionais que desempenham ocupações como tarefas de dona de casa, atividades de enfermagem e de cabeleireiro, onde a lavagem e secagem das mãos frequentemente podem resultar em expansão e contração da unhas, proporcionando então, o aparecimento de fraturas nas lâminas ungueais. Outras situações como a exposição ocupacional a produtos químicos, como os ácidos, cimentos, solventes, anilinas, álcalis, sal e soluções de açúcar podem danificar a coesão intercelular provocando essas fraturas. Além disso, as soluções cosméticas utilizadas para a remoção de esmaltes e também de cutículas e os instrumentais utilizados por manicures, também contribuem para o processo. O trauma interativo da unha na digitação, telefone de discagem, corte de unhas impróprios podem também ocasionar lesões de difícil tratamento (REBELO, 2019).

Outras patologias, principalmente as de origem sistêmicas, representadas pela figura 11, mostram diversas alterações como a mudança na coloração das unhas, perda de parte da lâmina ungueal, deformidades, desidratação, dentre outras; muito comum em pacientes com doenças da tireóide; seja hipo ou hipertireoidismo, doenças circulatórias, hepáticas, renais ou até respiratórias. As manchas esbranquiçadas presentes nas lâminas são muito comuns em pacientes com anemia, psoríase, falta ou deficiência de zinco, insuficiência renal, dentre outros (LOUREIRO, 2008).



Figura 11: Alterações nas unhas e patologias relacionadas – (IORIZZO, 2015; SANTOS,2015).

As manchas amareladas podem indicar unhas de fumantes, uso crônico de antibióticos, ingestão excessiva de betacaroteno, pelo consumo de alimentos como cenoura e abóbora. A coloração arroxeadada ou cianótica sugere micoses, problemas circulatórios e cardíacos, além de lúpus eritematoso sistêmico que é uma doença auto-imune. Unhas esverdeadas significam presença de bactérias e exsudato característicos de infecções bacterianas. Metade branca e metade avermelhada, problemas renais. Faixas negras ou avermelhadas sugerem melanoma. Fracas, secas e quebradiças pode ser indício de micoses, tumores, lúpus, e problemas cardíacos e ondulações que pode ser anemias e até doenças cardíacas (IORIZZO, 2015; SANTOS, 2015).

Apesar de existirem todas essas doenças nas unhas, percebe-se que a maioria das pessoas utilizam produtos que disfarçam esses problemas, não se preocupando em realmente tratar o problema. As indústrias cosméticas investem valores altos em produtos fortalecedores diversificados para seu tratamento e muitas inovações em esmaltes que realçam a beleza das unhas e até escondem algumas

deformidades locais, mas que não oferecem o tratamento esperado (BALBÉ; HENRIQUES; WEISE, 2015).

O estudo em questão, propõe a aplicação da Espectroscopia Raman Confocal para a visualização da permeação de um produto cosmético em unhas virgens e em unhas esmaltadas com uma e duas camadas de esmalte. Com a utilização da técnica pretende-se verificar sua eficácia, através da formação de espectros pela permeação do produto ao longo da profundidade da unha. No decorrer do trabalho será descrito através de gráficos de que forma o produto permeia pela unha, ultrapassando inclusive as camadas de esmaltes nela colocadas. A técnica utilizada pode demonstrar o quanto um produto pode ser percebido, através do aparecimento de espectros de seus componentes.

2.4 Espectroscopia Raman Confocal

2.4.1 Efeito Raman

A Espectroscopia Raman Confocal é uma técnica de espalhamento de luz pelas moléculas. Nesta interação da luz, as moléculas podem mudar o seu estado vibracional e, com isso, espalhar a luz remanescente em um novo comprimento de onda que se propaga pelo ar. Este efeito Raman foi descoberto e publicado pelo físico indiano chamado Chandrasekara Venkata Raman em 1928 (RAMAN, 1928).

O efeito Raman é descrito como uma das formas de interação da luz com a matéria. A energia, na forma de um fóton, excita estados vibracionais dentro de uma molécula em um gás ou líquido ou entre moléculas em um sólido para causar deslocamento da nuvem de elétrons e induzir uma mudança na polarizabilidade da ligação, isso configura a mudança de dipolo induzido (SANTOS, 2019). A reemissão do fóton é realizada quando a molécula relaxa e volta ao seu estado fundamental. De acordo com a diferença de energia entre os estados original e o estado relaxado, pode haver uma mudança na frequência da luz emitida em relação à luz incidente. Moléculas que relaxam no estado pré-excitado emitem a mesma frequência de luz. Moléculas que relaxam em um estado vibracional diferente, no entanto, emitem um fóton de energia diferente e dão origem a espalhamento inelástico (GALVIS, 2014).

A ERC moderna utiliza uma fonte de luz laser para gerar o espalhamento elástico e o espalhamento inelástico; e resulta em informações espectroscópicas vibracionais sobre as moléculas constituintes daquele componente. A chamada impressão digital espectral contém informações sobre as energias das vibrações moleculares. As energias vibracionais dependem da massa específica, da natureza das ligações químicas que as conectam, da simetria da estrutura molecular de um gás ou líquido e da estrutura local do ambiente em que residem. Ao longo da última década e meia, houve vários avanços na produção de sistemas para investigações espectroscópicas Raman. A construção de lasers de longa duração, geometrias de coleta eficientes, sondas de fibra óptica de pequeno diâmetro e detectores sensíveis permitiram a aplicação potencial da Espectroscopia Raman à ciência clínica. Desenvolvimentos recentes relacionados à espectroscopia Raman têm sido amplamente reconhecidos e mostram que através dela pode-se identificar compostos outrora não identificados (SABIN, 2012).

Segundo Sharma (2016), através das fibras ópticas é possível permitir a amostragem remota, pois, o laser e a luz dispersos viajam pela mesma onda de fibra óptica. O espectrômetro micro-Raman, embora não tenha sido projetado para amostragem remota, acopla o espectrômetro a um microscópio óptico, permitindo assim, a análise Raman com ponto de laser microscópico, ideal para pequenos recursos de amostra.

Alterações bioquímicas podem ser percebidas com a junção do microscópio confocal ao sistema Raman, pois, com elevada especificidade e em tempo real é possível visualizá-las sem que haja a necessidade de um procedimento invasivo de dissecação da matéria que está sendo estudada. Os espectros obtidos a partir dessa análise, podem mostrar informações moleculares sobre a composição estrutural e bioquímica da matéria e elas podem ser utilizadas para fins diagnósticos e também terapêuticos. Através do espalhamento Raman há uma dispersão de forma inelástica de cerca de 1 em aproximadamente 10^8 fótons e ainda com baixa probabilidade (SABIN, 2012; GALVIS, 2014).

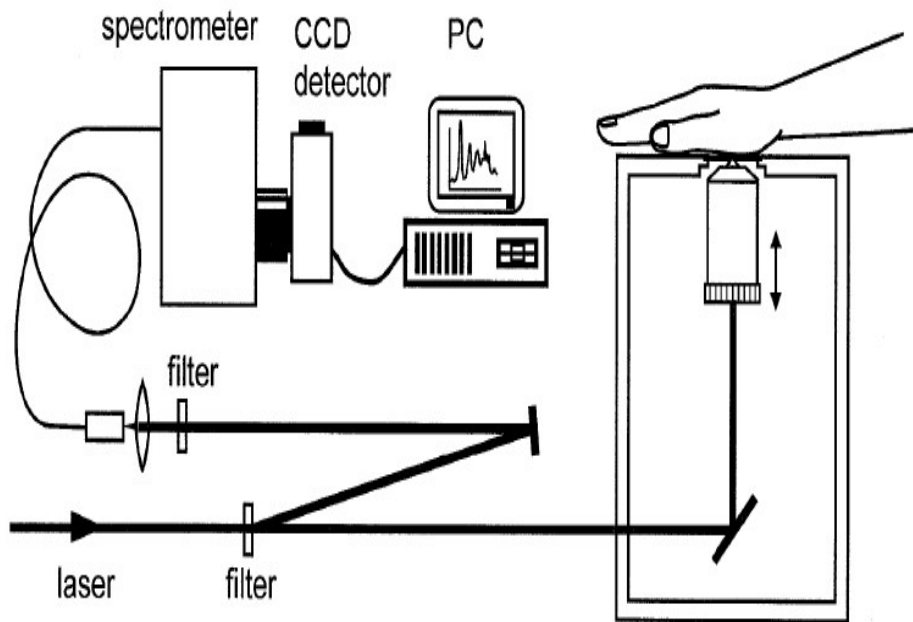


Figura 12– incidência de luz monocromática com emissão de espectros (CARSPERS, et. al., 2001).

2.4.2 Raman em tecidos biológicos – unha

Para estudos dermatológicos *in vivo*, desenvolveu - se um sistema Raman para sondar a pele, unhas, dentes e língua. A aquisição do espectro levou aproximadamente cinco segundos. Lieber e Mahadevan-Jansen desenvolveram um microespectrômetro Raman portátil para investigação clínica dermatológica. Atualmente, existem instrumentos que podem coletar, *in vivo*, espectros Raman de alta qualidade da pele humana em menos de um segundo e podem penetrar a profundidades de vários 100 μm (SCHUT, et.al., 2010, OLIVEIRA, 2012)

A Espectroscopia Raman Confocal tem sido utilizada com frequência na caracterização de tecidos biológicos *in vivo*, em diferentes profundidades (EGAWA; TAGAMI, 2007). Este método é baseado na irradiação do tecido biológico por raio laser. Através da energia espalhada pela amostra, as moléculas vibram e produzem informações sobre as ligações químicas, podendo determinar o aumento ou decréscimo da quantidade de um dado grupo molecular. Estes dados podem ser monitorados sem que haja interferência direta na amostra, pois, não é uma técnica invasiva. A espectroscopia Raman Confocal também é utilizada para o diagnóstico de patologias, seja em tecido vivos, ou também para analisar fluidos corporais (CARVALHO, et.al., 2011).

Recentemente a ERC está sendo utilizada para investigar a recuperação de unhas após tratamentos anti - micóticos (SHIN, 2016), associações entre sinal Raman da unha e qualidade dos ossos (CUMMINS, 2010) ou ainda, na área forense para detecção de resíduos em unhas humanas (ALI, et.al. 2008).

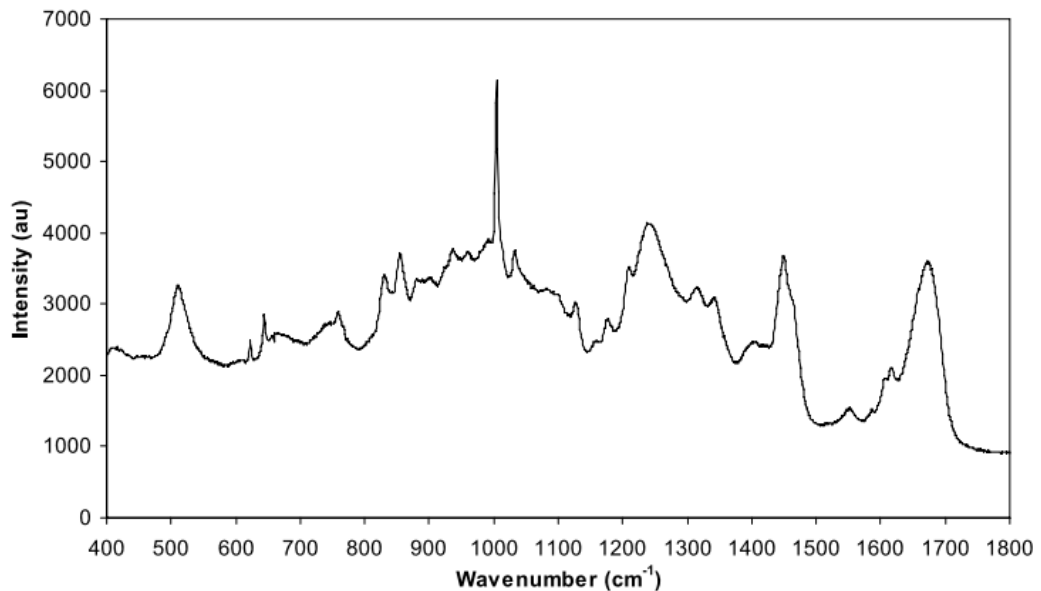


Figura 13 – Espectro de unha humana (CUMMINS, 2010).

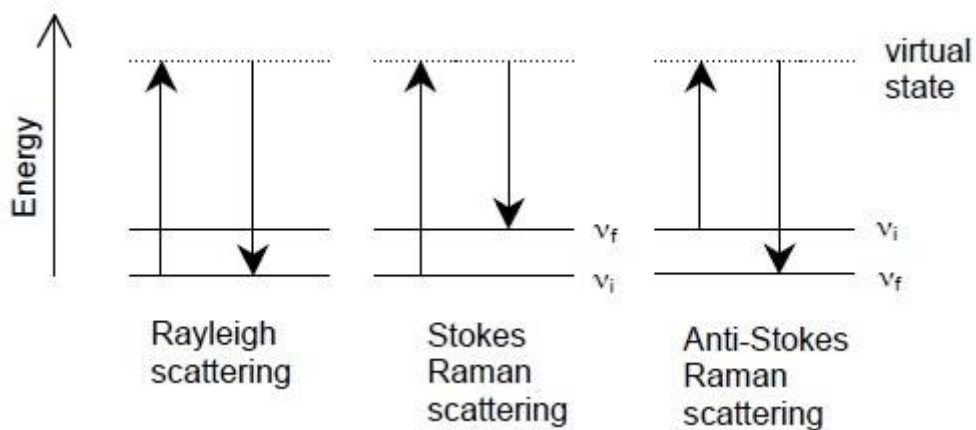


Figura 14 - Regiões de incidência de luz com formação de energia (LEWIS, 2001)

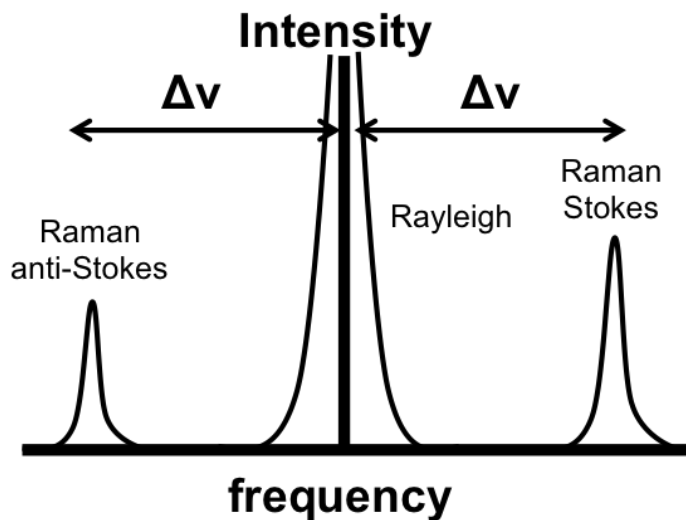


Figura 15 – Regiões de energia (BALANDIN, 2017)

Quando o laser incide na matéria, o fóton incidente induz a molécula a sair de seu estado fundamental ou original e esta vai para um estado virtual. Nesse momento a molécula encontra-se vibrando. Em seguida, há um relaxamento desta para um estado de maior energia que o inicial, esse espalhamento é chamado de Stokes. Quando inicialmente a molécula já está em um estado vibracional de maior energia e o fóton induz para um estado de menor energia, o espalhamento é chamado Anti-Stokes. Tais fenômenos são representados pelas figuras 14 e 15. O espalhamento Rayleigh ocorre quando a luz interage com as moléculas e espalha com a mesma energia que os fótons incidentes, ou seja a energia inicial é igual a energia final (TOSATO,2012).

Na área cosmética, a Espectroscopia Raman Confocal é amplamente aplicada por aliar a alta precisão e qualidade de dados com a necessidade de medidas *in vivo*, não invasivas e sem utilização de marcadores. Desta forma, a ação do produto é avaliada em situações reais do consumidor (OLIVEIRA, 2012).

Por ser uma técnica não invasiva e por não precisar de um preparo apurado do material para iniciarem-se os estudos; a espectroscopia Raman é muito eficaz também, para identificar diferenças entre compostos orgânicos e inorgânicos. Em pesquisa utilizada para detectar células cancerígenas e não cancerígenas, ela é utilizada para oferecer segurança no momento da retirada da lesão, evitando a excisão de parte da estrutura que se encontra saudável (OLIVEIRA, et.al.;2010)

Em particular, utilizando essa técnica, no presente estudo, será testada a permeação de um produto cosmético pelas unhas humanas esmaltadas com uma ou duas camadas ou sem esmaltação que é a unha controle; visando observar a permeação do mesmo na profundidade da unha.

Neste sentido, a Espectroscopia Raman Confocal detecta a presença do produto com resolução de 2 μ m de profundidade, indicando a segurança de se observar a permeação do produto na profundidade da unha virgem, e com esmalte (uma e duas camadas).

3 PROPOSIÇÃO OU JUSTIFICATIVA

A relevância do trabalho se dá em virtude de avaliar para fins comprobatórios a permeação de um produto cosmético na população em estudo. A intenção, portanto, é identificar a permeação do produto em unhas sem esmalte (unhas virgens), e em unhas esmaltadas com uma e duas camadas de esmalte. Para tanto faz-se necessário observar os resultados referentes a profundidade de permeação do mesmo ao longo das unhas; e a partir daí, pacientes com alguma patologia nas unhas como a SUF (síndrome de unhas frágeis) possam utilizar o tratamento mesmo com as unhas esmaltadas.

Através do estudo e de acordo com os resultados alcançados, poder-se-á oferecer futuramente ao mercado um produto que possa ser utilizado mesmo com as unhas esmaltadas. Ao fim, espera-se que a adesão dos pacientes ao tratamento seja maior.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo e seleção dos participantes

Trata-se de um estudo clínico, randomizado, comparativo e instrumental com o objetivo de verificar a potencialidade da técnica de Espectroscopia Raman Confocal em determinar a permeação de um produto cosmético pela unha humana esmaltada, com uma e duas camadas de esmalte. O estudo obteve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sob o código 66495517.5.0000.5494.

Foram selecionados 05 (cinco) participantes, entre homens ou mulheres, com idade entre 19 a 55 anos, que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Eles foram esclarecidos sobre a mesma e os cuidados que deveriam ter com as unhas no decorrer do estudo. Foram orientados a não utilizarem nenhum produto nas unhas selecionadas por um período de até quinze dias antes das medidas basais serem efetuadas;

Os critérios de não inclusão foram: gestação/ lactação ou intenção de engravidar no período do estudo; uso dos seguintes medicamentos de uso tópico ou sistêmico: imunossupressores, anti-histamínicos, anti-inflamatórios não hormonais, e corticoides até 30 dias antes da seleção ou considerando-se imunossupressores, o intervalo deverá ser de 3 meses antes da seleção; antecedentes atópicos ou alérgicos a produtos cosméticos; patologias e/ou lesões ativas (local e/ou disseminadas) na área de avaliação; marcas na área experimental que interfiram na avaliação de possíveis reações na unha; patologias que causam supressão da imunidade, tais como diabetes, HIV, dentre outras e patologias endócrinas tais como: tireoideopatias, distúrbios ovarianos ou de glândula adrenal; participantes de pesquisa portadores de imunodeficiência congênita ou adquirida conhecidas; histórico clínico relevante ou atual de evidência de abuso de álcool ou outras drogas; histórico conhecido ou intolerância suspeita a produtos da mesma categoria; tratamento estético ou dermatológico na área de avaliação até 02 (duas) semanas antes da seleção; profissionais diretamente envolvidos na realização do presente estudo.

Antes do início das análises, os participantes permaneceram por 30 minutos em ambiente climatizado ($23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) e a umidade relativa do ar mantida em 40-

50%, para evitar eventuais alterações nos resultados. Antes do início da pesquisa todos foram informados acerca de sua importância.

As unhas foram limpas com água e retirando com lenço as sujidades que pudessem influenciar nos resultados. O produto foi aplicado em toda a superfície da unha, porém, só foi medida apenas uma área, devido ao foco do laser aplicado.

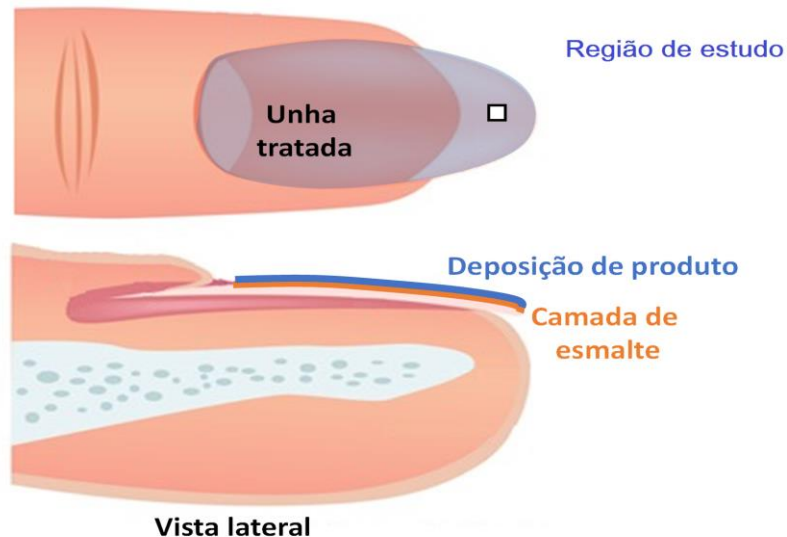


Figura: 16 – Região de estudo e aplicação do produto na unha

4.2 Grupos e análise por ERC

As medidas por Espectroscopia de Raman Confocal (WILLIAMS,1994), foram realizadas diretamente na unha antes da aplicação, e após 1 hora da aplicação do produto. As amostras foram categorizadas da seguinte forma:

- 1) Unha controle + produto – o produto foi depositado sobre a unha virgem e a permeação foi medida após 1 hora.
- 2) Unha 1(uma)camada esmalte + produto – foi aplicada uma camada de esmalte e depois de 1(uma) hora foi aplicado o produto. As medidas foram realizadas após 1 hora da aplicação do produto.
- 3) Unha 2(duas) camadas de esmalte + produto – foram aplicadas duas camadas de esmalte e depois de 1(uma) hora foi aplicado o produto. As medidas foram realizadas após 1(uma) hora da aplicação do produto.

Neste estudo, os dados foram coletados utilizando um sistema Raman confocal da Rivers Diagnostics® (Model 3510 Skin Composition Analyzer) acoplado a um laser com energia de excitação de 785 nm. A luz do laser foi centrada na unha com uma objetiva do microscópio (40x) localizada sob a janela de quartzo. O sinal Raman foi coletado por uma câmera Charge Coupled Device (CCD) e registrado em um computador acoplado. A potência do laser na unha foi de aproximadamente 20 mW. Esta potência é considerada segura, não provocando efeito colateral bioquímico, nem aquecimento da região. A aquisição espectral ocorreu no intervalo de números de onda entre 400 e 1800 cm^{-1} . As profundidades analisadas na unha foram de 0 – 200 μm com passos de 2 em 2 μm .

4.3 Processamento do sinal Raman

Os dados foram trabalhados para minimizar os efeitos dos ruídos e detalhar melhor as possíveis sobreposições que pudessem interferir na percepção do componente na amostra. Para isso utilizou-se a segunda derivada, o aumento da frequência em cm^{-1} . e a filtragem digital para a remoção dos ruídos. O pré-processamento dos dados foi realizado no software Labspec (Horiba JobinYvon, França). Para reduzir os efeitos de ruído, foi aplicada a suavização de dados utilizando o filtro Savitzky-Golay (tamanho 9 grau 5). Esse filtro ajusta um polinômio a certa janela com um número fixo de pontos do espectro. A fluorescência presente nos dados foi eliminada subtraindo uma linha de base usando o ajuste polinomial (grau 7). Seguindo essa subtração, os espectros foram normalizados vetorialmente para eliminar as diferenças sistemáticas entre as medidas.

Através da aplicação da segunda derivada com a finalidade de trabalhar os espectros brutos extraídos da amostra, pode-se diminuir os efeitos gerados pela sobreposição das bandas espectrais e provocadas na linha de base, possibilitando assim, visualizar-se melhor o espectro característico do produto e de cada componente do mesmo. É importante que se tenha cuidado com a qualidade das informações captadas para minimizar esses ruídos

Em busca de determinar a presença do produto nas diferentes profundidades, primeiramente foi coletado o sinal Raman do produto puro, do esmalte puro e da unha virgem. As bandas que não possuíssem energia coincidentes com as bandas das unhas que foram marcadas, foram rastreadas nas demais amostras a fim de se obter

as respostas quanto à permeação do produto pelo esmalte com uma e duas camadas atingindo as camadas da unha.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as informações obtidas em todo o decorrer do trabalho pode se esboçar os resultados a seguir, levando em consideração os gráficos obtidos por ocasião da análise dos espectros obtidos da amostra. Os grupos para análise foram em número de três, sendo o primeiro unha controle, o segundo unha com uma camada de esmalte e o terceiro unha com duas camadas de esmalte distribuídos entre os participantes da pesquisa e seguindo a metodologia referida.

Inicialmente identificou os espectros característicos de unha controle, esmalte e produto puro. Eles foram obtidos pela observação das alterações dos padrões espectrais que identifica alterações espectrais de forma precisa e também por análise hierárquica de cluster, que engloba uma lista de diferentes algoritmos e métodos para agrupar objetos do mesmo tipo nas respectivas categorias. É uma ferramenta que analisa a triagem de objetos diferentes em grupos, de modo que quando os dois ou mais se juntam tornam-se o máximo; sendo do mesmo grupo e mínimo se forem de grupos diferentes (ROSES,2002). A análise de agrupamento descobre as estruturas dos dados sem que se faça necessária explicar porque elas existem, conforme mostra a Figura 17.

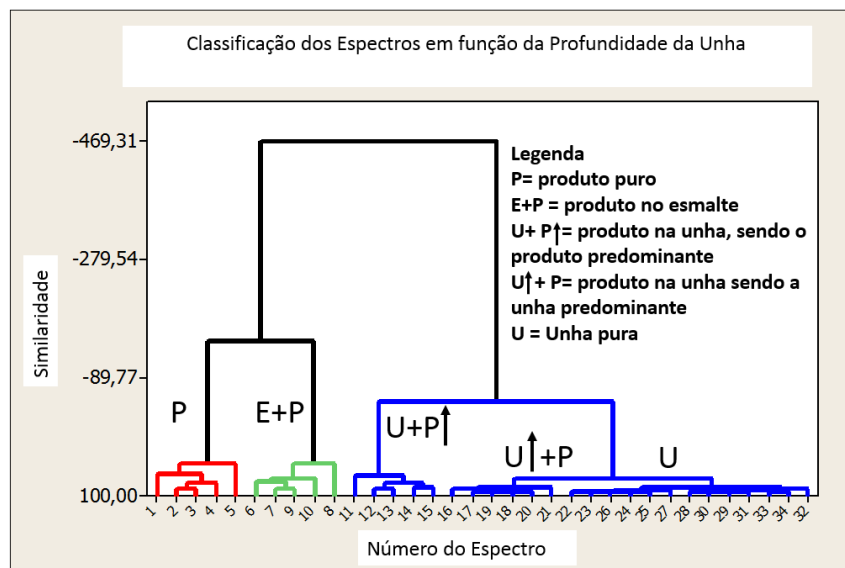


Figura 17: Resultado da análise hierárquica de cluster do conjunto de espectros para uma amostra com uma camada de esmalte e tratada com o produto, com o propósito de exemplificar a identificação de interfaces.

A partir da metodologia explicitada foi possível identificar na figura acima, os espectros de cada amostra sendo: esmalte (E) esmalte com produto (E+P), unha com produto (U+P) e unha controle (U).

Pela análise de cluster e das medidas das intensidades Raman, foi possível medir a quantidade relativa do produto que penetra na unha em função da espessura do esmalte. A quantidade relativa é a medida de produto total que permeou ao longo da unha esmaltada em comparação com a unha não esmaltada. Se não houvesse esmalte, a permeação seria considerada um micrón (μm). Conforme mostrado, a presença do esmalte pode diminuir o poder de permeação do produto na profundidade da unha, sendo observado na figura 18. Mesmo com a presença do esmalte, notou-se que ainda há a permeação do produto na unha, mas, que diminuiu de forma gradativa à medida que se aumentou a espessura do esmalte.

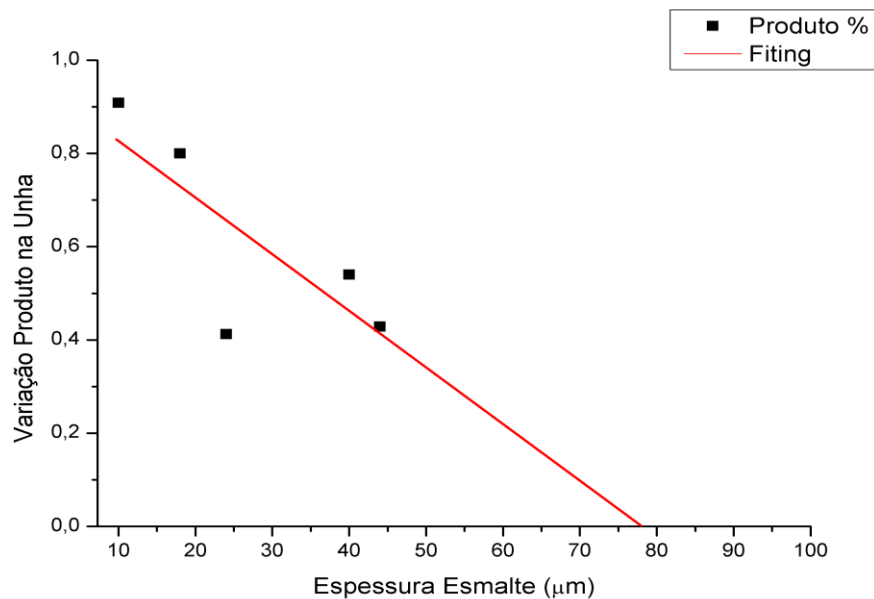


Figura 18: Taxa de permeação do produto na unha em função da espessura do esmalte aplicado.

Verificou-se que, para uma camada de esmalte entre 10 e 14 μm a permeação foi de 80% em relação à permeação do produto na unha virgem, que foi de 100%. Para camadas mais espessas de esmalte, ou seja, considerando-se acima de 14 μm esta capacidade de permeação tendeu a diminuir, pois, observou-se que, a quantidade de produto é inversamente proporcional à espessura do esmalte. Segundo o ajuste linear destes dados, a permeação do produto na unha tende a zero quando o esmalte possuir uma camada de espessura superior a 78 μm .

Para dar seguimento, a primeira etapa consistiu em encontrar marcadores e assinaturas para o produto puro, para o esmalte, a fim de identificá-los nos espectros da unha. Neste contexto, as figuras 19 e 20, mostram os espectros característicos para região de análise de baixa frequência (400 a 1800 cm^{-1}) e de alta frequência (2520 a 4000 cm^{-1}). Os marcadores espectrais foram listados na Tabela 1.

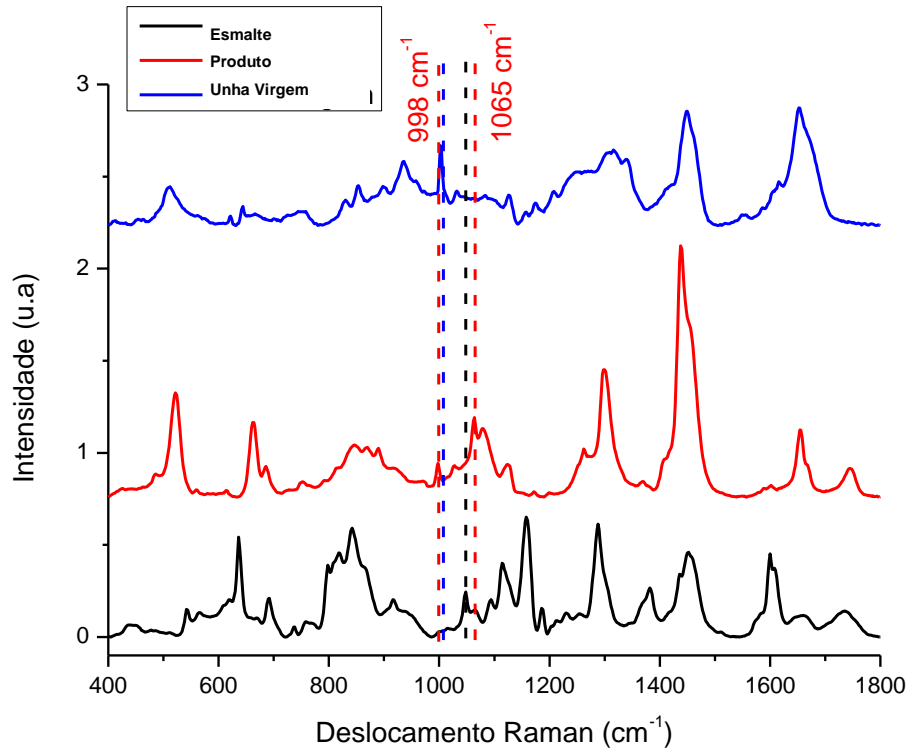


Figura 19: Espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de baixa frequência (400 a 1800 cm^{-1}).

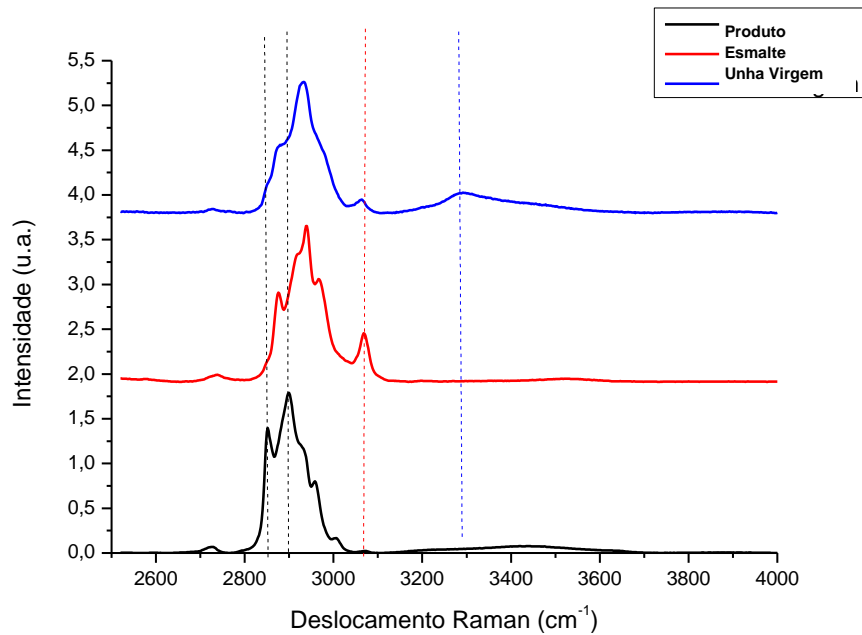


Figura 20: Espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de alta frequência (2520 a 4000 cm^{-1}).

De acordo com as figuras apresentadas foram encontradas assinaturas espectrais que mostram a profundidade da permeação do produto na superfície do esmalte e da unha ao longo de uma hora que foi o tempo preconizado para as leituras, de acordo com a tabela abaixo.

Tabela 1: Picos característicos do esmalte puro, produto puro e unha virgem.

Esmalte (cm^{-1})	Produto(cm^{-1})	Unha(cm^{-1})
635	524	1004
817	662	1655
1047	998	3282
1160	1065	
1286	1080	
1381	1262	
1599	1302	
2876	1437-1446	
2940	2726	
3070	2852	
	2898	

A tabela mostra as assinaturas espectrais mais evidentes do esmalte, do produto puro e da unha, não excluindo a presença de outros marcadores na amostra total.

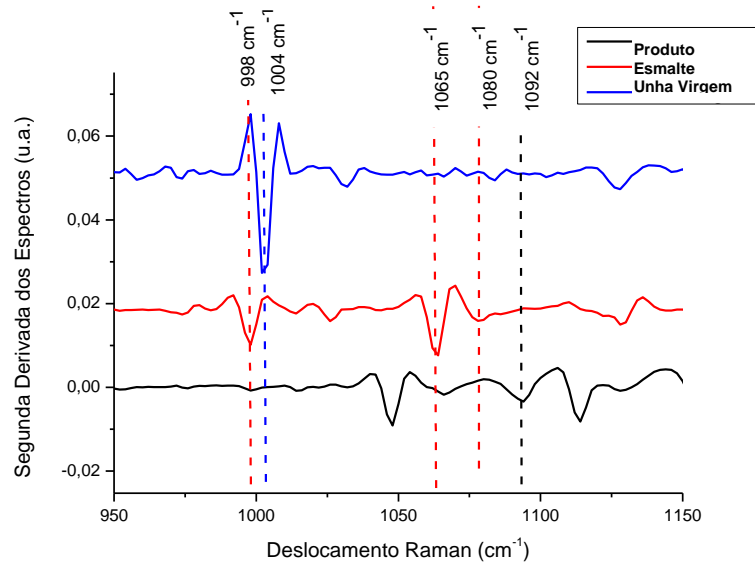


Figura 21: Segunda derivada dos espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de 950 a 1150 cm^{-1} .

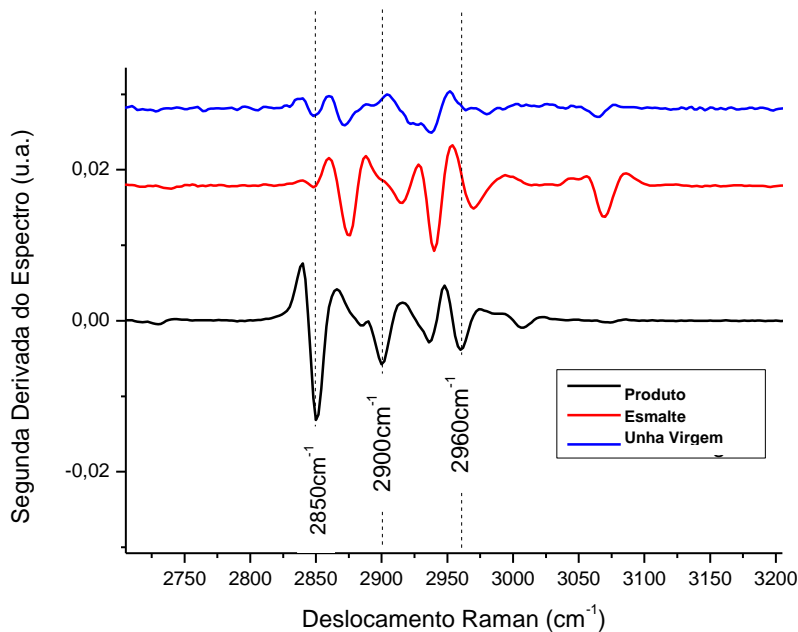


Figura 22: Segunda derivada dos espectros Raman da unha virgem, do produto puro e do esmalte puro, na região de alta frequência (2520 a 4000 cm^{-1}).

Apesar de verificar-se uma quantidade elevada de assinaturas, muitas delas apresentam uma grande sobreposição entre as bandas espectrais dos componentes,

e isso pode levar a uma interpretação equivocada dos resultados. Para aumentar a precisão na identificação do produto e esmalte, realizou-se a segunda derivada nos espectros normalizados. As figuras 21 e 22 mostram a aplicação da segunda derivada nas regiões, onde os picos se sobrepõem, a fim de que se possa evidenciar a presença real do produto em esmalte com uma duas camadas, ou em unha virgem.

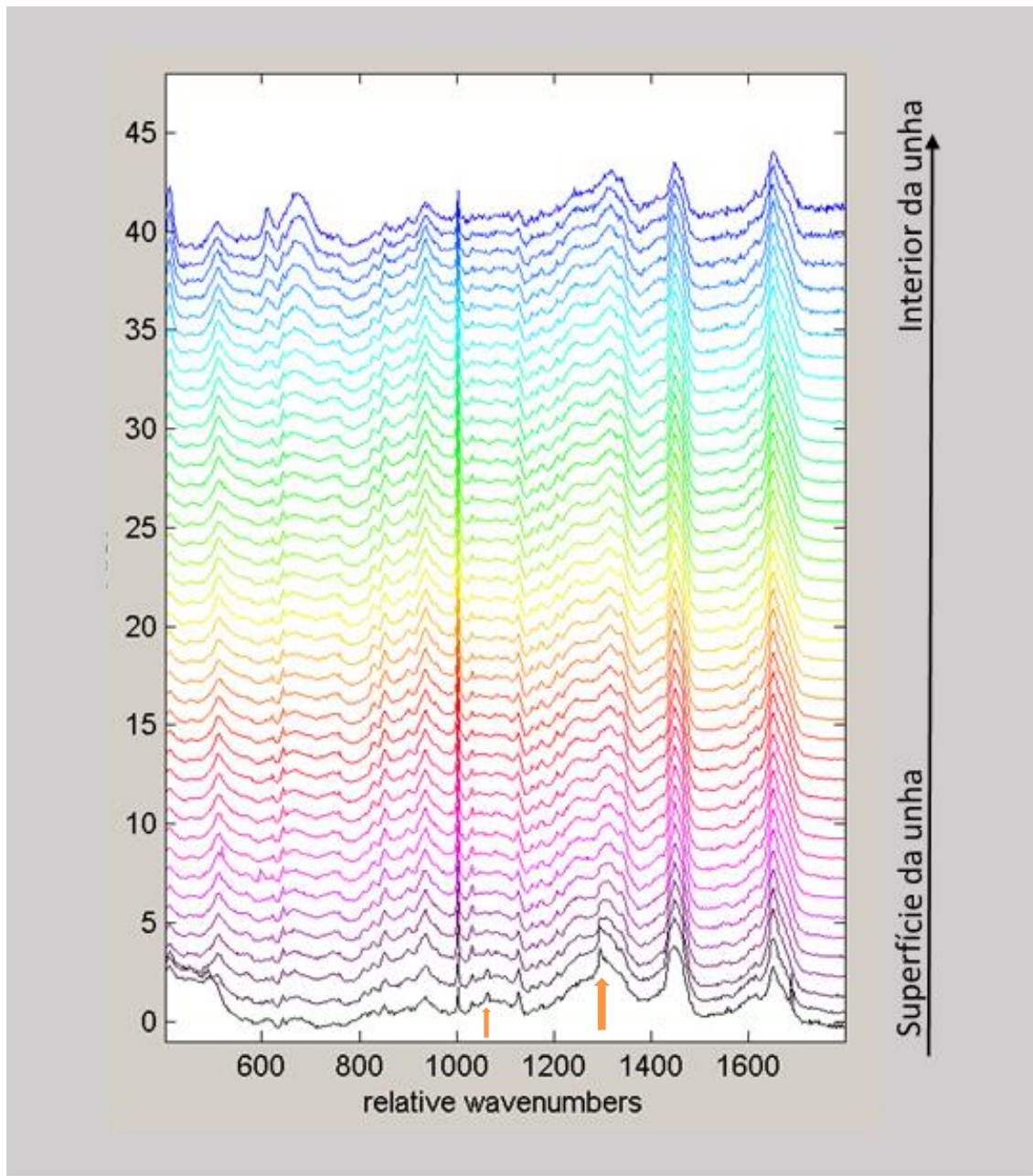


Figura 23: Espectros Raman característicos de uma unha tratada com o produto, em função da profundidade (de 0 a 100 μ m). As setas laranjas mostram indicadores da presença do produto na unha.

Após a caracterização dos alvos de identificação das assinaturas espectrais, iniciaram-se as medidas das amostras com o produto. A figura 23 mostra a obtenção

dos espectros Raman característicos de uma unha tratada com o produto, em função da profundidade de 0 a 100 μm . A superfície da unha se encontra nos espectros inferiores e camadas mais profundas da unha estão caracterizadas nos espectros superiores. A cada profundidade é obtido um espectro Raman característico do local estudado.

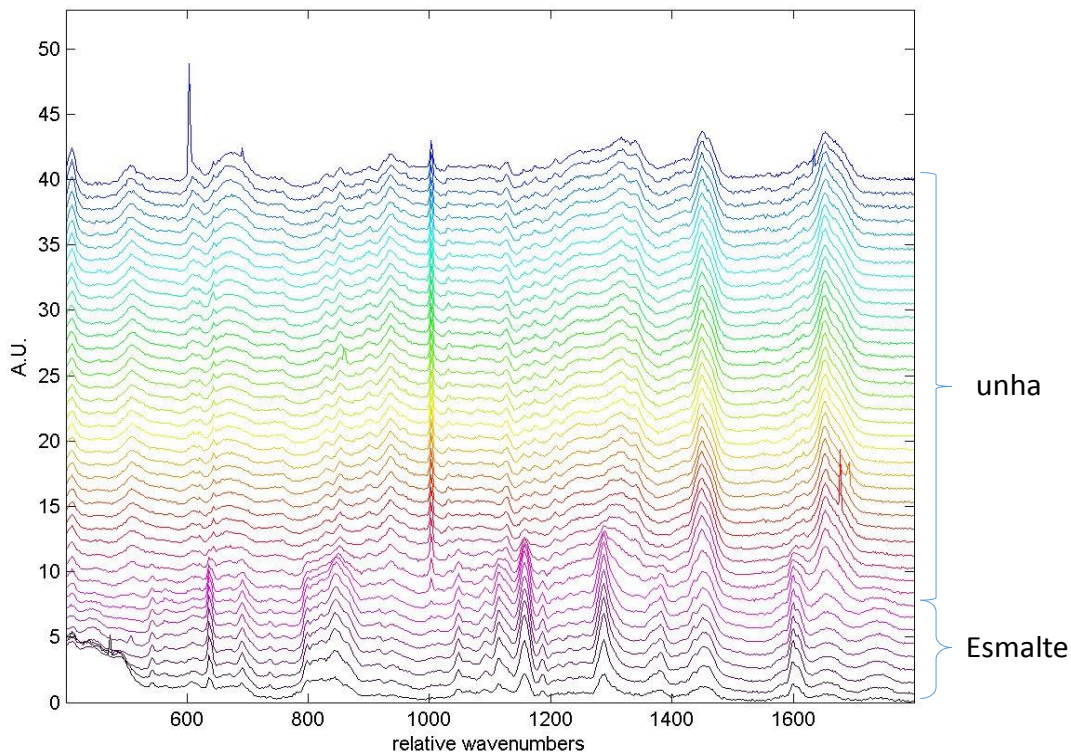


Figura 24: Espectros Raman característicos de uma unha com uma camada de esmalte e tratada com o produto, em função da profundidade (de 0 a 100 μm).

As figuras 24 e 25 apresentam os espectros Raman, em função da profundidade, para unhas com aplicação de uma ou duas camadas de esmalte e com a presença do produto, respectivamente. As figuras mostram limiar entre o esmalte e a unha com precisão e passo de 2 em 2 μm . Esta afirmação é baseada na forte alteração espectral que ocorre entre estas duas regiões e é confirmada pela identificação das características espectrais de cada meio, através da visualização dos espectros.

Conhecendo o número de espectros característicos do esmalte para cada profundidade é possível assim, determinar a espessura desta camada e conseqüentemente, a possibilidade de correlacionar esta variável com a profundidade de permeação do produto. Deste modo, a figura 24 mostra que para uma aplicação

única de esmalte, o número de espectros característicos desta camada é de 9 passos de 2 em 2 μm , portanto somando 18 microns.

Apesar das figuras mostrarem alguns indícios da presença do produto, o processamento dos gráficos para uma análise detalhada se faz necessário conforme é discutido em seguida.

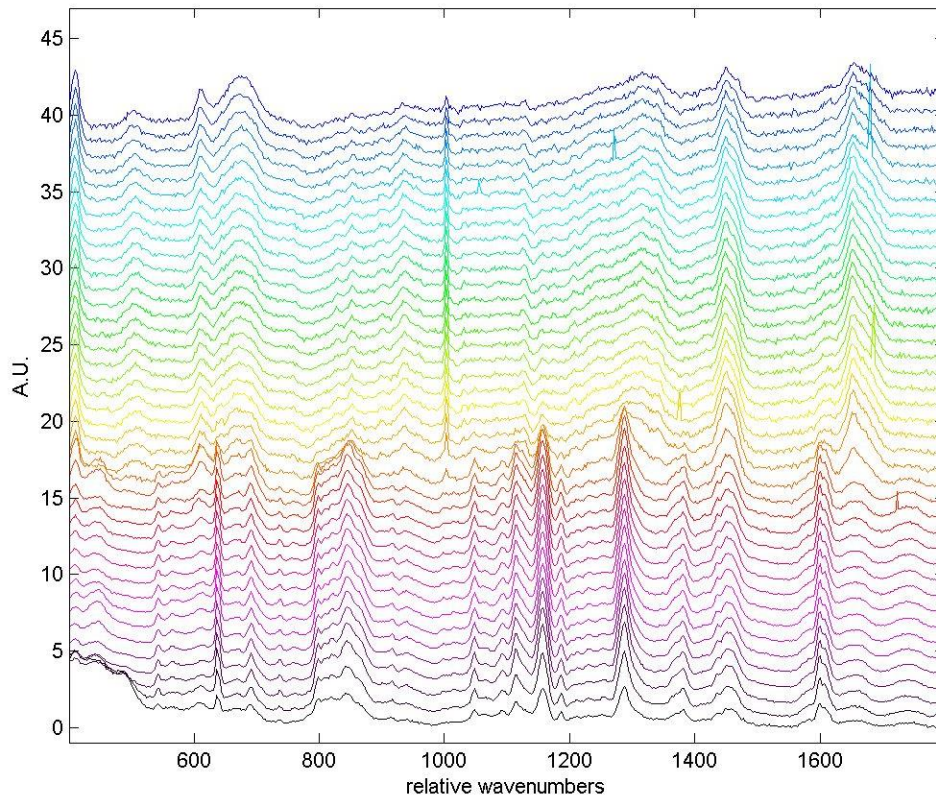


Figura 25: Espectros Raman característicos de uma unha com duas camadas de esmalte e tratada com o produto, em função da profundidade (de 0 a 100 μm).

Na Figura 25, para aplicação de duas camadas de esmalte, o número de camadas característicos do mesmo é de 16 compassos de 2 em 2 μm , somando, portanto, 32 microns (μm).

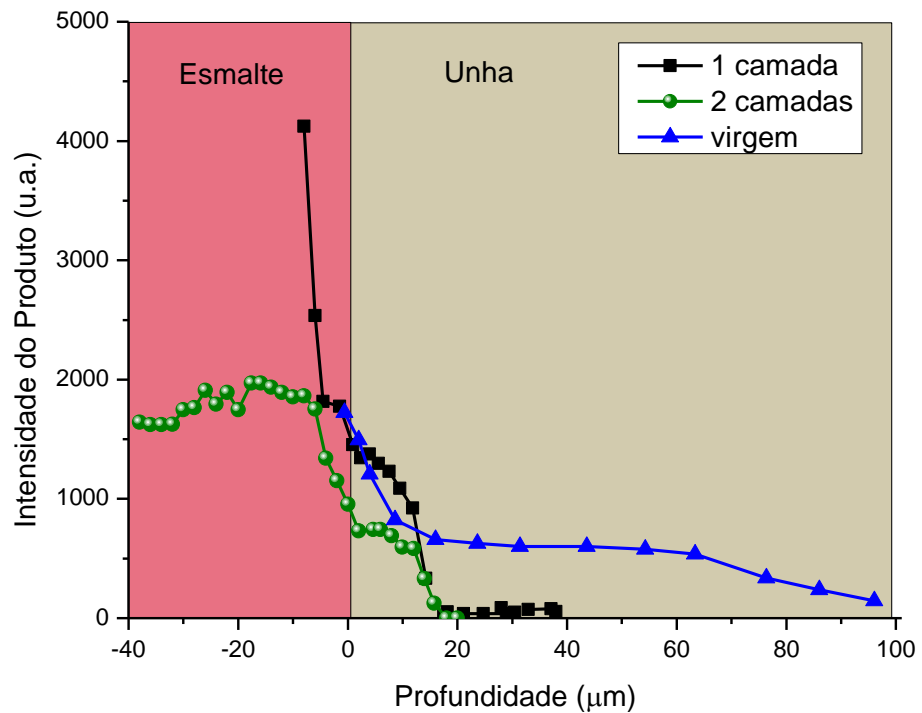


Figura 26: Dependência da intensidade do produto, em função da profundidade do esmalte e da unha, medida em amostra controle + produto, com uma e duas camadas de esmalte.

A ERC permitiu também que se fizesse a medida do perfil de permeação do produto. Esta medida de perfil de permeação, representa a distribuição espacial do produto ao longo da profundidade da unha. Na Figura 26, é mostrado um exemplo de perfil de permeação do produto. A superfície da unha é estabelecida como ponto zero μm .

Para valores negativos de profundidade é mostrada a permeação do produto pelo esmalte, com uma e duas camadas; e, para valores positivos, é mostrada a permeação do produto pela unha controle

Na unha com 1 (uma) camada de esmalte, de aproximadamente $10 \mu\text{m}$, o sinal da presença do produto decai em 63% na interface entre o esmalte e unha ou seja, no limite entre eles. Ao permear a unha, a intensidade do produto decresce em torno de 30% em relação ao sinal de permeação inicial. Por fim, a permeação do esmalte foi de aproximadamente $18 \mu\text{m}$ na unha, após uma hora da sua aplicação.

O mesmo tipo de análise foi realizado para a amostra com duas camadas de esmalte de aproximadamente $40 \mu\text{m}$ de espessura. Ao permear no esmalte, o sinal do produto permanece aproximadamente constante e depois decai em 45% na

interface entre esmalte e unha. Ao permear na unha, o sinal decresce em 54% e apresentou um poder de permeação de até aproximadamente 18 μm .

Além dos perfis de permeação em unhas esmaltadas, mostra-se na Figura 18 o perfil de permeação do produto em uma unha controle, com o objetivo de comparação dos dados. Nesta amostra, a permeação do produto em unha controle atingiu 100 μm e ainda apresenta a tendência de detecção da presença do produto em profundidades superiores de acordo com o tempo de exposição ao produto.

Pela análise das amostras esmaltadas com uma e duas camadas, pode-se inferir que o produto permeia o esmalte e penetra na unha. No entanto, a permeação em uma unha não esmaltada (unha controle + produto) é aproximadamente cinco vezes superior de uma unha esmaltada, o que comprova uma permeação eficaz do produto.

Após a análise espectral do produto e sua permeação em unha controle, com uma camada de esmalte e com duas camadas de esmalte, resolveu-se analisar a permeação dos componentes do produto ao longo das unhas e estas com esmaltação. A partir daí, encontrou-se, portanto, as assinaturas espectrais de cada um, sendo mostradas na tabela 2, onde os componentes foram especificados por letras do alfabeto e maiúsculas, tais como: P, J, L e G, conforme segue.

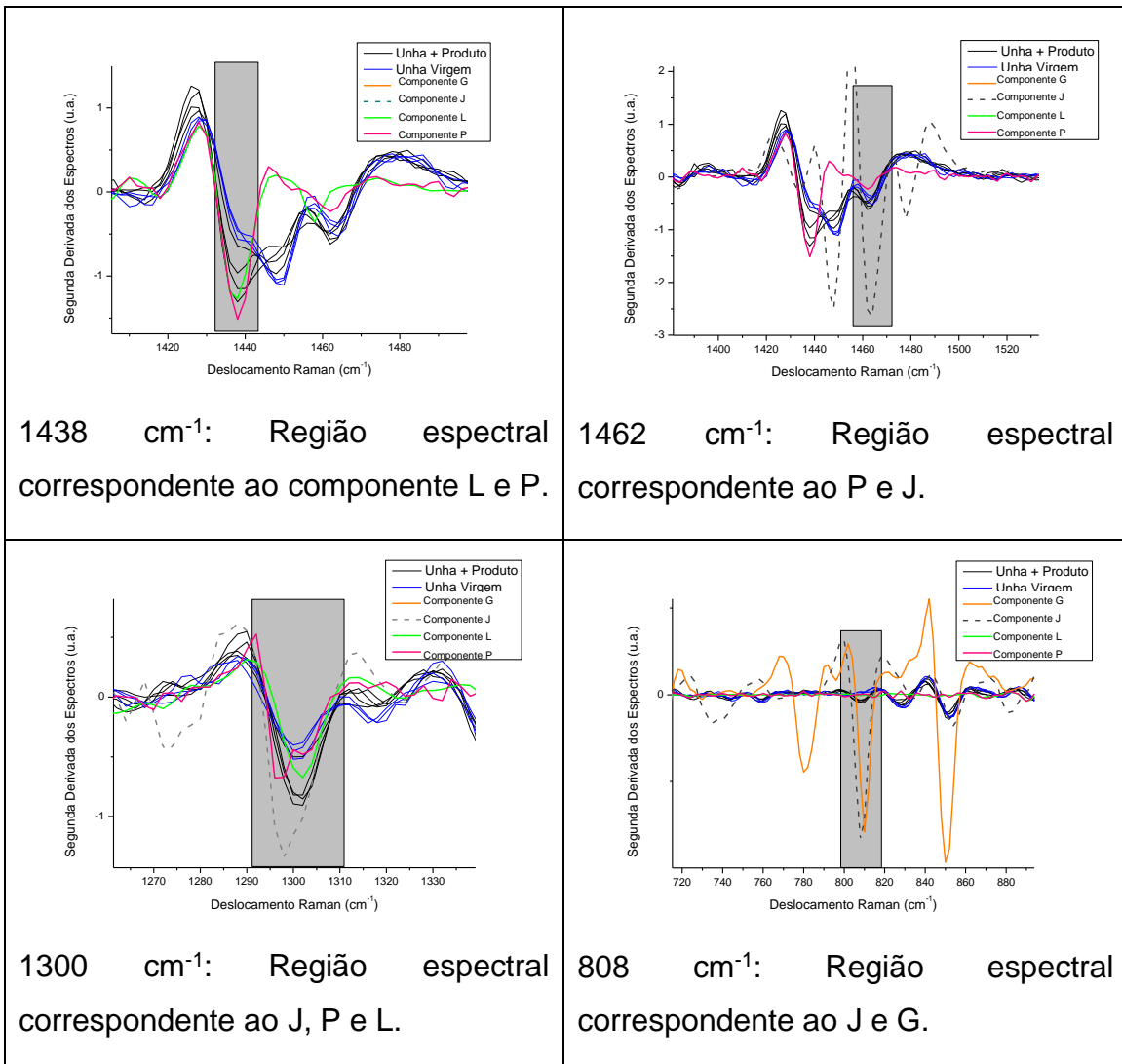
5.1 Assinaturas Espectrais dos componentes do produto

Tabela 2: Picos característicos do esmalte puro, produto puro, componentes ativos e unha controle.

Esmalte (cm^{-1})	Produto (cm^{-1})	Unha (cm^{-1})	J (cm^{-1})	P (cm^{-1})	G (cm^{-1})	L (cm^{-1})
635	524	1004	1020	998	1007	691
817	662	1655	638	1028	1142	1015
1047	998	3282		1065		1065
1160	1065			1080		1080
1286	1080					
1381	1262					
1599	1302					
2876	1437-1446					
2940	2726					

3070	2852					
	2898					

Com a das assinaturas espectrais de cada componente do produto tornou-se possível identificar o espectro característica de cada e onde se percebe a presença na amostra. Existem picos espectrais que são semelhantes porém, para se avaliar a impressão digital dos componentes deve-se observar o grau de profundidade do espectro na amostra. Seguem gráficos relacionados a presença dos componentes do produto identificados por G,J,L e P, e suas assinaturas espectrais características.



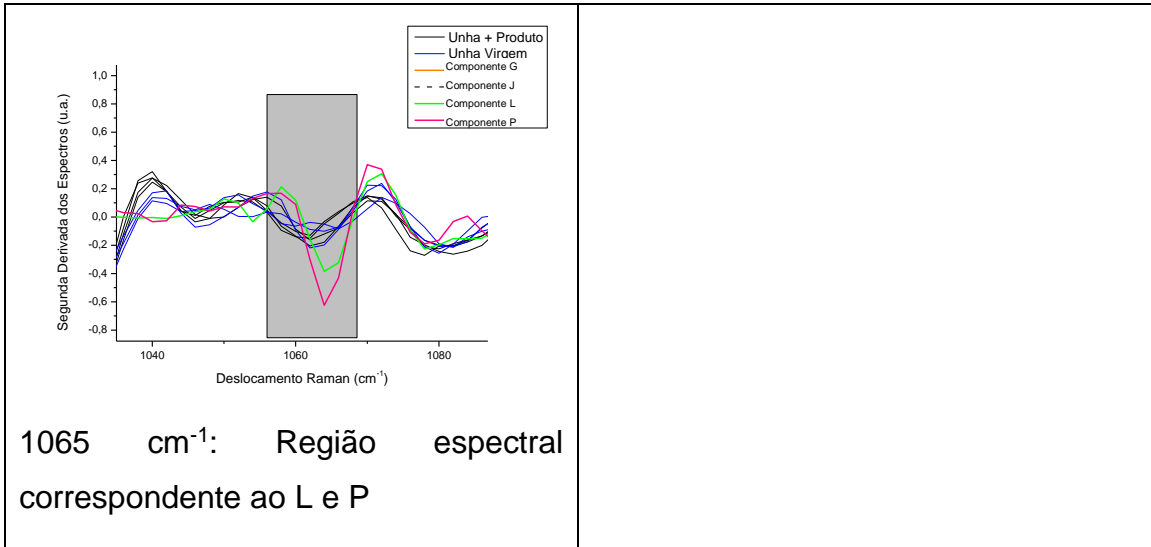


Figura 27 (a-e): Regiões espectrais características da presença de cada produto em comparação com as unhas tratadas e não tratadas, mostrando superposição de dois componentes.

As figuras 27 (a-e) mostram as alterações na unha tratada (controle + produto) em comparação com a unha controle; e a frequência Raman atribuída aos componentes do produto que promovem estas alterações.

Observa-se nestas figuras que os picos espectrais possuem uma sobreposição com mais de um componente. Apesar de possuírem grande intensidade, não são específicos de um único componente e, portanto, não podem ser utilizados como assinatura espectral de um componente específico.

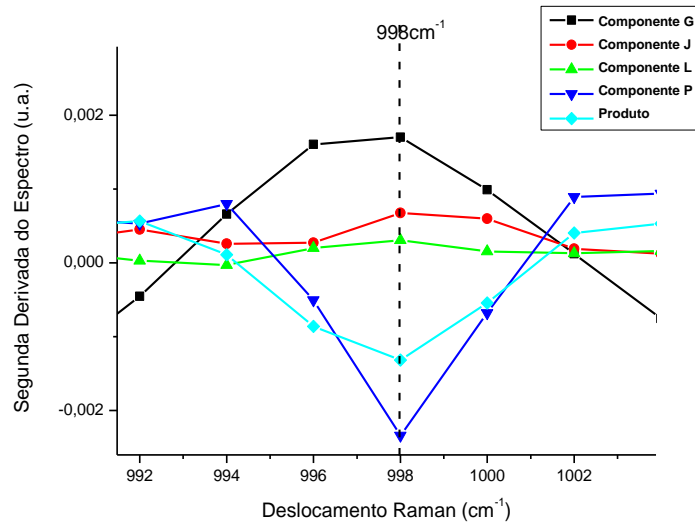


Figura 28: Região espectral característica do componente P em 998 cm^{-1} .

Na Figura 28, é mostrada a derivada dos espectros para o produto e para cada um de seus componentes. Observa-se que a região espectral de 998 cm^{-1} é característica única do componente P. Concavidade para baixo, significa maior quantidade de produto, assim, calculando a intensidade da derivada nesta região foi possível detectar a presença do componente P e determinar o perfil de permeação em função da profundidade. Observa-se também nesta figura, que exatamente na mesma frequência de 998 cm^{-1} , o produto, também possui pico característico, mostrando assim, a presença deste componente no produto. Mostra também, a variação de intensidade do componente P em função da profundidade na presença da camada de esmalte com uma e duas camadas.

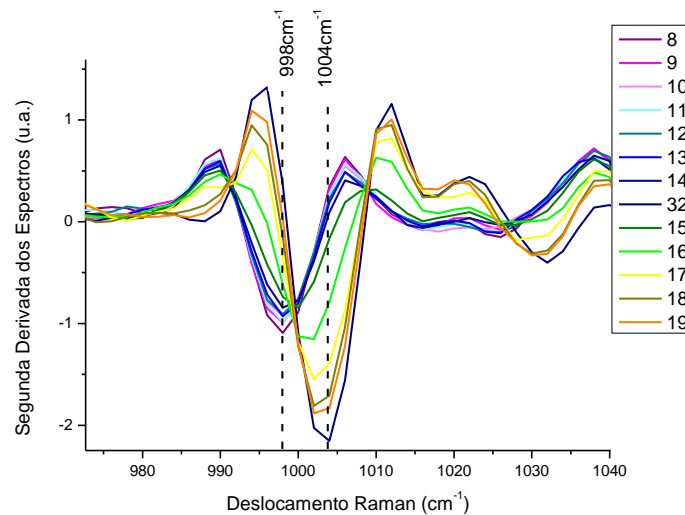


Figura 29: Região espectral mostrando o componente P no esmalte (uma e duas camadas) e unha com produto (controle).

O resultado desta metodologia de cálculo de perfil de permeação é mostrado na figura 29 para o componente P.

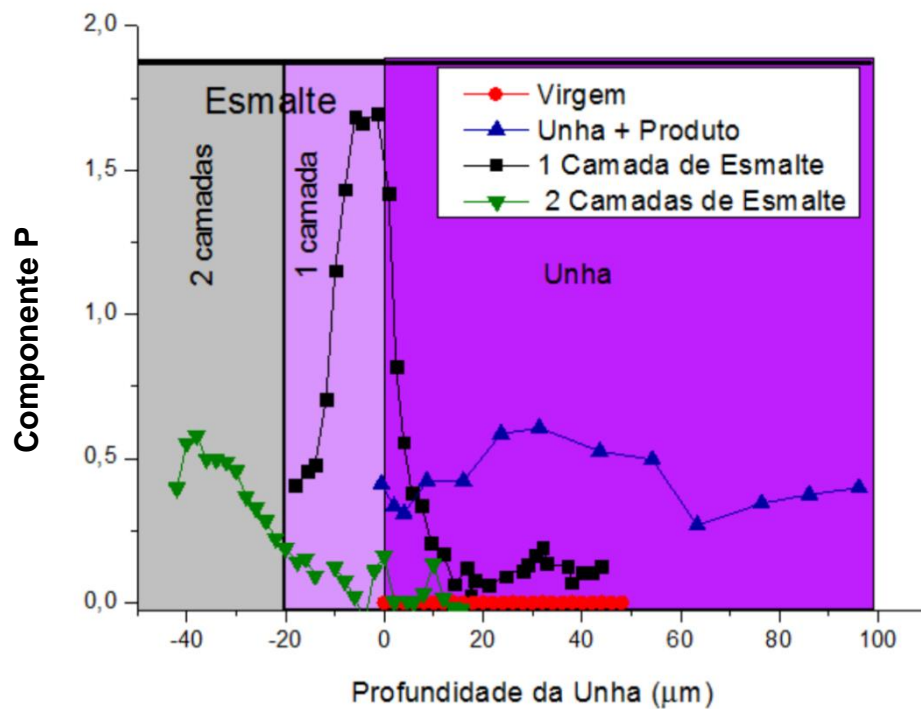


Figura 30: Cálculo do perfil de permeação do componente P para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.

Observa-se na figura 30 que o componente P permeia até próximo de 100 µm na unha controle. No caso da unha com uma camada de esmalte, o componente P permeia mais rapidamente pelo esmalte, ficando com uma alta concentração na interface esmalte e unha. Na unha com uma camada de esmalte, o componente P está presente em até aproximadamente 18 µm. No caso de duas camadas de esmalte, ocorre um pequeno aumento na interface entre esmalte e unha, e o componente P está presente em até 2 µm na unha. O pequeno valor de permeação se dá muito provavelmente pela baixa quantidade presente deste componente na interface entre esmalte e unha.

Como forma de teste complementar, alterou-se o tempo de permanência do produto e a espessura da segunda camada. Conforme pode ser verificado na Figura 22, em azul são os dados originais (esmalte com 34 µm), em preto a unha apresenta 2 camadas finas de esmalte (20 µm) e, por isso, houve um aumento de permeação até 6 µm. Verifica-se que os valores de intensidade do componente P dentro do esmalte também foram maiores. Em vermelho as camadas (40 µm) são espessas, mas, o tempo de deposição do produto foi aumentado para 12 horas. Por isso, houve uma permeação maior que a situação original. Desta forma, verifica-se que o

componente P permeia mesmo com duas camadas de esmalte, mas, a profundidade de permeação depende da espessura destas duas camadas e da quantidade depositada do produto.

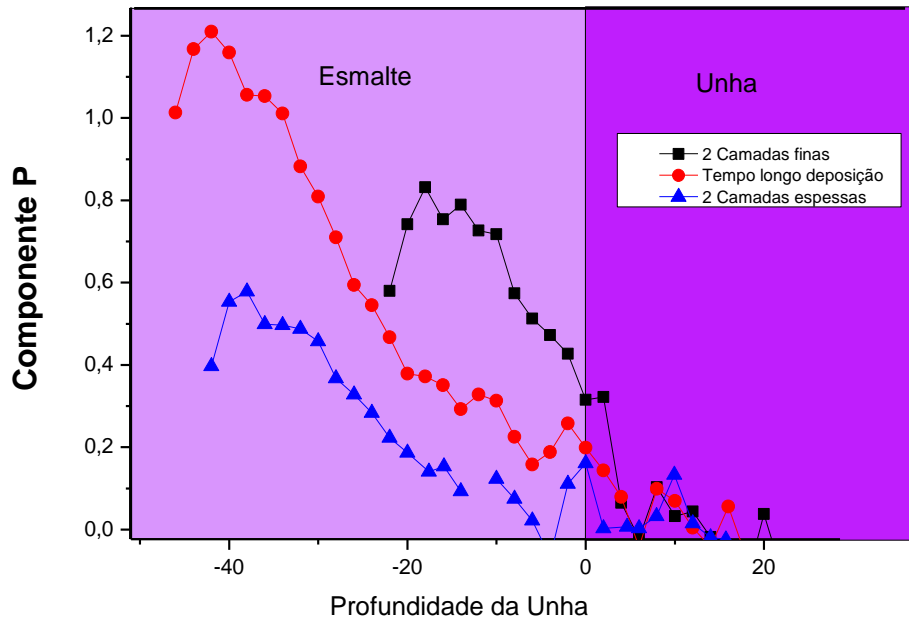


Figura 31: Comparação da permeação do componente P em unhas com duas camadas de esmalte, como uma função do tempo de deposição e da espessura das camadas de esmalte.

Para o componente G, a assinatura espectral única ocorre na região espectral de 1142 cm^{-1} como mostrado na figura 32. Através do cálculo da intensidade da concavidade nesta região, observa-se que ocorreu uma alta permeação deste componente na unha, tanto para uma como para duas camadas de esmalte, e estende-se em até aproximadamente 18 microns na unha.

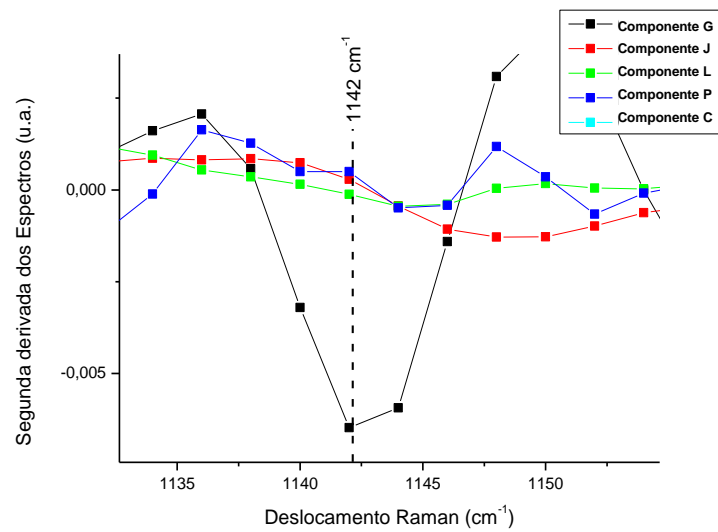


Figura 32: Assinatura espectral do componente G em 1142 cm^{-1}

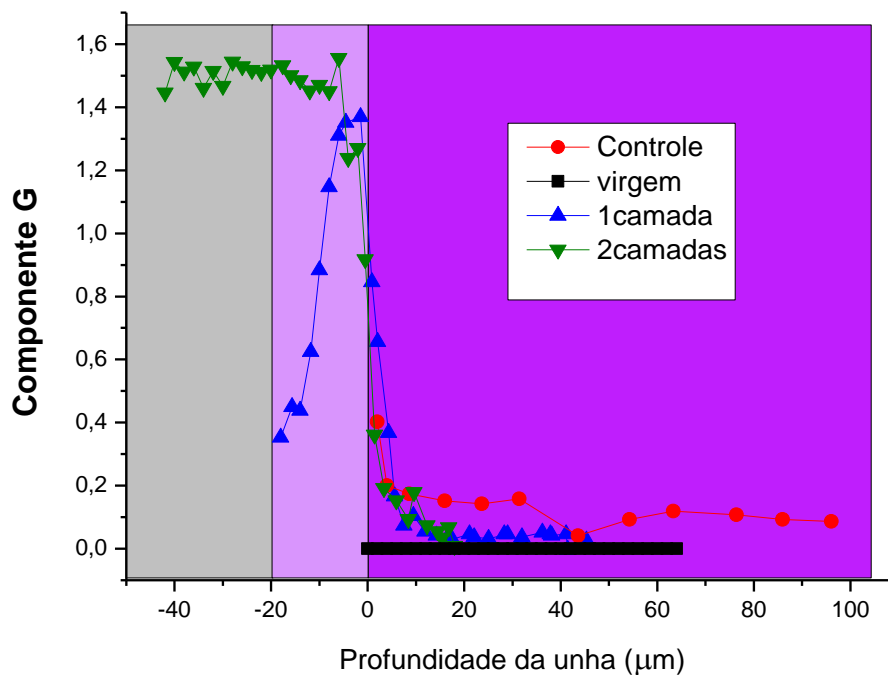


Figura 33: Cálculo do perfil de permeação do componente G para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.

Observa-se na figura 33 que o componente G permeia até próximo de $100\ \mu\text{m}$ na unha controle. O padrão de permeação para uma ou duas camadas se difere na região do esmalte e se assemelha na região da unha. Para uma camada, o composto

G se concentra na interface. Para duas camadas de esmalte o componente G se distribuiu de forma homogênea ao longo da espessura do esmalte.

O componente J, mostra um pico característico em 638 cm^{-1} (Figura 34). Pelo cálculo do perfil de permeação, este componente também mostra uma alta estocagem na interface entre esmalte e unha para ambas as camadas de esmalte (Figura 35).

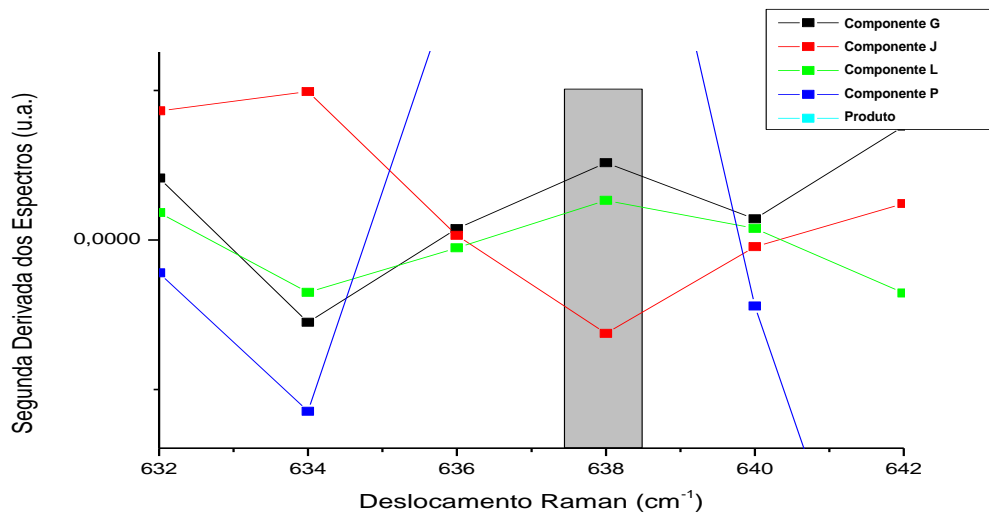


Figura 34: Região espectral característica do componente J.

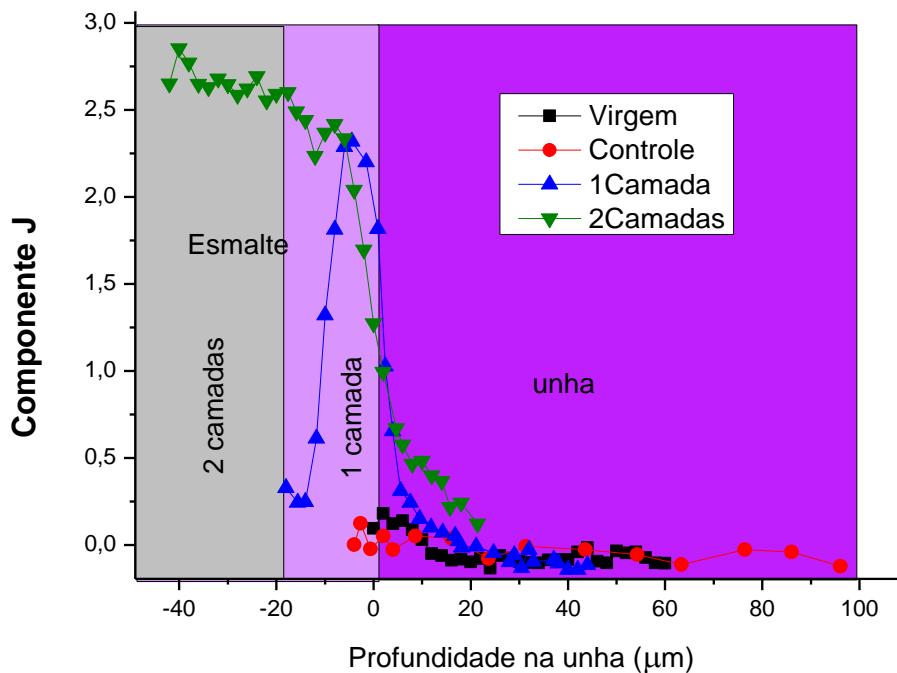


Figura 35: Cálculo do perfil de permeação do componente J para uma, duas camadas de esmalte e unha sem esmalte.

O cálculo do perfil de permeação do componente J mostra que está presente em até aproximadamente 20 μm no interior da unha para uma camada e para duas camadas de esmalte.

Para o componente L, a assinatura espectral única ocorre na região espectral de 692 cm^{-1} como mostrado na figura 36. Através do cálculo da intensidade da concavidade nesta região, observa-se que ocorreu uma alta permeação deste composto, tanto para uma como para duas camadas de esmalte, e estende-se em até aproximadamente 20 microns na unha (Figura 37).

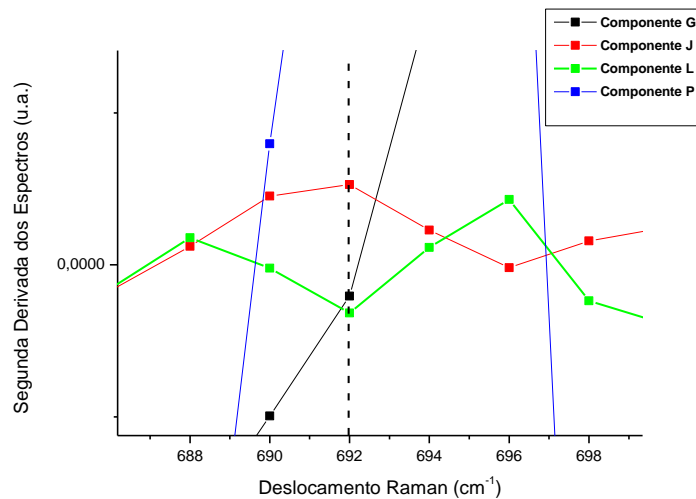


Figura 36: Região espectral característica do componente J, com pico característico de 692nm.

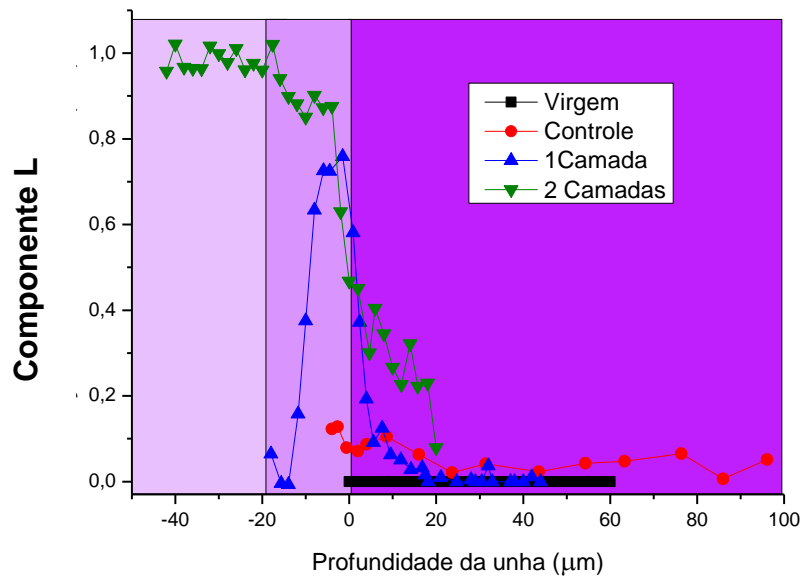


Figura 37: Cálculo do perfil de permeação do componente L para unha controle(sem esmalte), e unhas com uma, e duas camadas de esmalte.

O produto total apresenta um padrão de permeação até aproximadamente 20 µm (Figura 38). Este padrão se assemelha ao observado para o componente G, o L e para o J. Para o componente P, a permeação é de 18 µm para uma camada de esmalte, mas diminui com a espessura do mesmo. Esta permeação poderá ser aumentada se a deposição do produto acontecer por um intervalo maior de tempo.

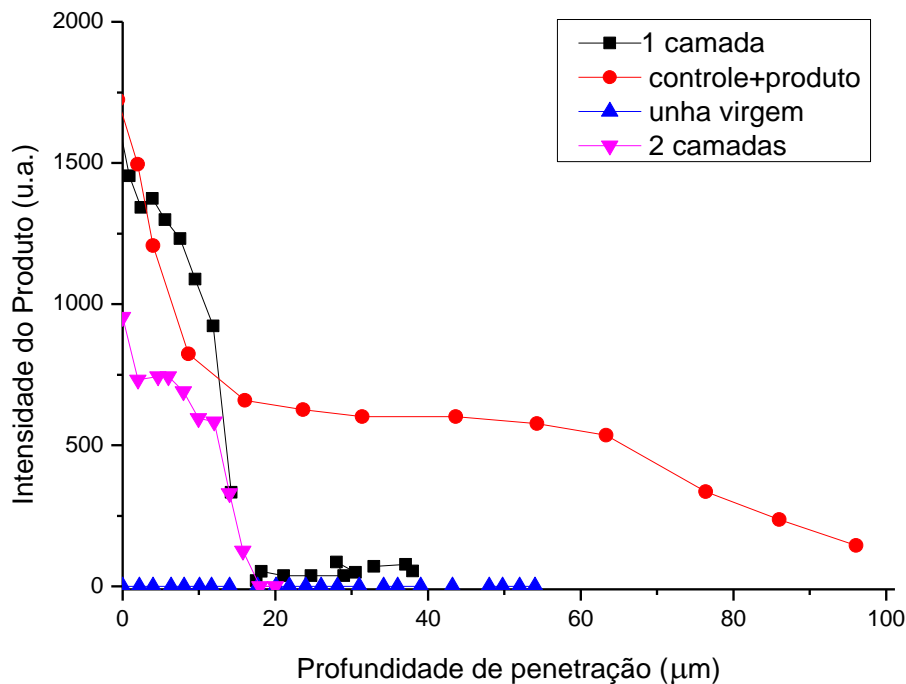


Figura 38: Dependência da intensidade do produto medida pela segunda derivada do pico 1065 cm^{-1} , em relação a profundidade, para as amostras tratadas com unha virgem e produto (controle), unha com uma camada de esmalte e com duas camadas de esmalte.

Utilizando a análise cluster e a aplicação da segunda derivada nos gráficos de espectros encontrados para cada amostra, pode-se visualizar a quantidade de produto que permeou na unha esmaltada em comparação com a unha sem esmalte, em função da espessura do esmalte (uma e duas camadas). Para a diminuição dos ruídos existentes em decorrência da sobreposição dos espectros e a suavização dos dados, utilizou-se o filtro Savitzky-Golay. A partir daí, foram identificadas as assinaturas espectrais em cada amostra.

Para a eficácia da análise com a ERC inicialmente foi realizado os espectros individuais de cada amostra e descobertas suas assinaturas espectrais de identificação, conforme especificou-se na tabela 1. Utilizou-se as frequências baixa de $400\text{ a }1800\text{ cm}^{-1}$, e alta de $2520\text{ a }4000\text{ cm}^{-1}$.

Após o início da pesquisa, com aplicação do produto e seguindo toda a metodologia abordada, observou-se que para camadas muito finas de esmalte, de aproximadamente $10\mu\text{m}$, que correspondente a uma camada, houve a retenção de apenas 20% do produto, após uma hora de aplicação. Para camadas espessas de

esmalte (duas camadas) com espessura superior a 78 μm , a permeação do produto tendeu a diminuir e atingir zero de permeação. Além disso, as medidas de perfil de permeação mostraram que o produto tendia a permear pelo esmalte e atingir até aproximadamente 18 μm da unha.

Apesar do valor percentual de permeação em comparação com a unha virgem, destaca-se que a medida foi realizada em um tempo curto de aplicação (uma hora) e a simples detecção do produto na unha esmaltada (uma e duas camadas) foi considerada promissora. De acordo com os dados apresentados, existe uma estocagem de produto nas interfaces produto-esmalte (primeira e segunda camada) e unha-esmalte. Este produto pode continuar a permeação ao longo do tempo. Espera-se que a velocidade de permeação do produto pelo esmalte seja menor do que do produto pela unha. Isso sugere que a permeação do produto pelo esmalte (com uma e duas camadas) ainda não cessou após uma hora da deposição do produto.

Após a análise espectral dos gráficos obtidos a pesquisa continuou buscando separar os componentes do produto e denominando de componentes G, J L e P. Foi utilizada a mesma abordagem e foram identificadas as assinaturas espectrais de cada um deles conforme especificado na tabela 2.

Em analisando a permeação de cada componente de forma separada pode-se observar que todos também, tem uma permeação eficaz, chegando a quase 20 microns de profundidade, porém, o componente P necessita ficar mais tempo em contato com a unha para ter uma permeação igual aos demais. E pela assinaturas referidas na tabela 2, o componente P tem picos espectrais que se assemelham ao do produto total, como 998 cm^{-1} .

Para os componentes G, J , e L, as assinaturas espectrais próprias foram respectivamente: 1142 μm , 638 μm e 691 μm . Isso significa que se encontrar-se bandas nesses espectros; essas correspondem aos componentes mostrados.

Com a utilização da ERC, pode observar que há a presença do produto nas amostras. E sendo este, um produto fortalecedor de unhas, principalmente utilizado para o tratamento de Síndrome de Unhas Frágeis, é esperado que haja um aumento do número de pessoas que venham aderir ao tratamento, e também pelo fato de não ser necessário deixar de se esmaltar as unhas para fazê-lo. Com isso, a frequência de aplicação do produto será maior e conseqüentemente os resultados serão promissores.

Levando-se em consideração estes dois pontos, espera-se que a quantidade de produto final na unha esmaltada (uma e duas camadas) seja adequada para eficácia no tratamento da SUF.

7 CONCLUSÃO

A Espectroscopia Raman Confocal é uma importante técnica, não invasiva de análise de material, visto que foi capaz de mostrar a permeação de um produto cosmético ao longo da profundidade da unha controle e esmaltada com uma e duas camadas. Através da utilização do método pode-se medir comparativamente a permeação do produto pelo esmalte com uma e duas camadas e percebeu-se também a permeação do mesmo na profundidade da unha.

Pode-se inferir que a permeação do produto é inversamente proporcional à espessura do esmalte e cessa quando há camada de esmaltes com espessura superior a 78 μm .

Apesar da quantidade de produto em unhas esmaltadas ser cinco vezes menor que em unhas virgens, o tratamento em unhas esmaltadas (uma e duas camadas) prevê uma maior adesão de pacientes com SUF. Esta medida traz para a dermatologia uma opção de tratamento em pacientes que precisam esmaltar suas unhas semanalmente, principalmente por ser uma exigência do trabalho que executam.

Observou-se pelo estudo que os componentes G, J, L e P permeiam em aproximadamente 20 microns, em unhas esmaltadas com uma e duas camadas, mostrando que o produto pode ser utilizado para o tratamento de unhas fracas. A relevância deste estudo se dá na perspectiva de uma maior adesão e maior permanência dos pacientes no sentido de continuarem o tratamento com o produto ,pois, a esmaltação não o impedirá.

REFERÊNCIAS

ADIGUN, Chris G. **MD, Dermatology & Laser Center of Chapel Hill**. Last full review/revision February 2017.

ALI, E. M. A. et al. **Raman spectroscopic investigation of cocaine hydrochloride on human nail in a forensic context**. Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 390, n.4, p. 1159-1166, 2008.

APPLEGATE, E. **Anatomia e fisiologia**. Elsevier Brasil, 2012.

BALANDIN, Alexander A., **Raman spectroscopy**. Department of Electrical and Computer engineering Bourns College of Engineering - University of Califórnia – Riverside, California 92521 USA, 2017.

BALBÉ, Alice; HENRIQUES, Bárbara; WEISE, Bárbara. **Programa “Bem Estar”:** **Jornalismo a serviço da qualidade de vida**. Livro de Actas 8º Sopcom - Comunicação Global, Cultura e Tecnologia, 2013.

CARPERS, P.J. et al **In vitro and in vivo Raman spectroscopy of human skin**. Bioespectroscopy. v.4, p. 31-39, 1999.

CASPERS, P. J. et al **In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: noninvasive determination of Molecular Concentration Profiles**. J Invest Dermatol; p. 116:434, 2001.

CASPERS, P.J. et al **Non-invasive measurement of water concentration in the skin**. River Diagnostic BV.

CARVALHO, C. S. et al. **A rheumatoid arthritis study using Raman spectroscopy**. Theoretical Chemistry Accounts, v.130, p.1211-20, 2011.

CARVALHO, A. C. M.S.; **Sinais ungueais de doenças sistêmicas**. Área Científica de Dermatologia. Coimbra. 2011. p 5.

CASHMAN, Michael W.; SLOAN, Steven Brett. Nutrition and nail disease. **Clinics in dermatology**, v. 28, n. 4, p. 420-425, 2010.

COLOMBO, V. et al. **Treatment of brittle fingernails with biotin: scanning electron microscopy**. J Am Acad Dermatol, v. 23, p. 1127-32, 1990.

COSTA, I. M. C; NOGUEIRA, L. S-C.; GARCIA, P. S. Síndrome das unhas frágeis. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro , v. 82, n. 3, p. 263-267, June 2007.

COSTA, Valéria Catelli Infantozzi. **Anatomia Geral Humana**. Ribeirão Preto, 2008.

CUMMINS, N.M. et al. **Raman spectroscopy of fingernails: A novel tool for evaluation of bone quality?** Spectroscopy 24, 517–524, 2010

DENIS, A. B. et al. Um Estudo Qualitativo por Espectroscopia de Fluorescência e por Termogravimetria de uma Resina de Nanopartículas: Uma Avaliação do Efeito de Diferentes Fontes de Luz. ***Orbital: The Electronic Journal of Chemistry***, v.8, n.2, p. 96-101, 2016.

DEL ROSSO, J. Q. **Diseases of the nail unit**. ACP Medicine. 2012.

EGAWA, M; TAGAMI, H. **Comparison of the depth profiles of water and water-binding substances in the stratum corneum determined in vivo by Raman spectroscopy between the cheek and volar forearm skin**: effects of age, seasonal changes and artificial forced hydration. *British Journal of Dermatology*, v. 158, n. 2, p. 251-60.

FRANZEN, L.; WINDBERGS, M. **Applications of Raman spectroscopy in skin research** – from skin physiology and diagnosis up to risk assessment and dermal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 89 (2015) 91-104.

GALVIS-CARRENO, Diana Fernanda; MEJIA-MELGAREJO, Yuri Hercilia; ARGUELLO-FUENTES, Henry. Efficient reconstruction of Raman spectroscopy imaging based on compressive sensing. ***Dyna rev.fac.nac.minas***, Medellín , v. 81, n. 188, p. 116-124, Dec. 2014 . Available from <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532014000600014&lng=en&nrm=iso>. access on 23 Feb. 2020. <http://dx.doi.org/10.15446/dyna.v81n188.41162>.

GEQUELIM, Giulio Cesar et al . Perception of brittle nails in dermatologic patients: a cross-sectional study. ***An. Bras. Dermatol.***, Rio de Janeiro , v. 88, n. 6, p. 1022-1025, Dec. 2013 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962013000601022&lng=en&nrm=iso>. access on 23 Feb. 2020. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20132327..>

GNIADACKA, M. et al. **Structure of Water, Proteins, and Lipids in Intact Human Skin, Hair, and Nail**. *The Journal of Investigative Dermatology*, v.110, n.4, p.393-8, 1998.

HARRIS, Maria Inês Nogueira de Camargo. **Pele**: estrutura, propriedade e envelhecimento. São Paulo: Editora Senac, 2012.

HEXSEL, Doris et al. Oral supplementation with specific bioactive collagen peptides improves nail growth and reduces symptoms of brittle nails. ***Journal of cosmetic dermatology***, v. 16, n. 4, p. 520-526, 2017.

IORIZZO, Matilde. Tips to treat the 5 most common nail disorders: brittle nails, onycholysis, paronychia, psoriasis, onychomycosis. ***Dermatologic clinics***, v. 33, n. 2, p. 175-183, 2015.

ISENMANN, ARMIN FRANZ. **Princípios Químicos em Produtos Cosméticos e Sanitários**. 2015.

JOHNSON, W. R.; WEGENER, E. E.; **Identification of common nail and skins disorders**. J. Hand Ther. 23: 2010; p 187-198.

JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. *Histologia básica: texto e atlas*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KALASINSKI, V. F. **Biomedical applications of infrared and Raman microscopy**. Appl. Spectrosc. Rev. 31, 193–249, 1996.

KERKHOFF, V. et al. **Brittle nail syndrome: a pathogenesis base approach with proposed grading system**. J Am Acad Dermatol., v. 53, p. 644-52, 2005.

KUDSEN, L. **Natural variations and reproducibility of in vivo near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy of normal human skin**. Journal of Raman Spectroscopy, v33, n7, p574-579, 2002.

KUZUHARA, A. **Analysis of structural change in keratin fibers resulting from chemical treatments using Raman spectroscopy**. Biopolymers 77, 335–344, 2005.

KUZUHARA, A. **Analysis of structural changes in permanent waved human hair using Raman spectroscopy**. Biopolymers 85, 274–283, 2006.

LANDEMANN, J. **In vivo Raman spectroscopy detects increased epidermal antioxidative potential with topically applied carotenoids**. Laser Physics Letters, v6, n1, p76-79, 2009.

LEWIS, I.R., EDWARDS, H.G.M., Eds.; MARCEL Dekker Handbook of Raman Spectroscopy: From **The Research Laboratory to the Process Line**;: New York, 2001.

LINDON, J.C. et al **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry**. Amsterdã, Elvevier, p. 1993, 2000.

LOUREIRO, W. R.; *Doenças das unhas. Principais doenças dermatológicas*. Medicina net. 2008.

MAGALHÃES, Geraldo Magela; SUCCI, Isabel Cristina Brasil; SOUSA, Maria Auxiliadora Jeunon. *Subsídios para o estudo histopatológico das lesões ungueais*. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 78, n. 1, p. 49-61, 2003.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Anatomia e fisiologia**. Artmed Editora, 2009.

MENDES, T. O. et al **Statistical strategies to reveal potential vibrational markers for in vivo analysis by confocal Raman spectroscopy**. Journal of Biomedical Optics, v. 21, p. 075010, 2016.

MURDAN, S. **Nail disorders in older people, and aspects of their pharmaceutical treatment.** *International journal of pharmaceutics*, v. 512.2, p. 405-411, 2016.

NAKAMURA, R.; Doenças das unhas. 2017 <roberthacnakamura@gmail.com> [acesso](#) em: 09 de março de 2020.

OLIVEIRA, Andrea Fernandes de et al . Differential diagnosis in primary and metastatic cutaneous melanoma by FT-Raman spectroscopy. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo , v. 25, n. 5, p. 434-439, Oct. 2010 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502010000500009&lng=en&nrm=iso>. access on 23 Feb. 2020. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502010000500009>.

OLIVEIRA, Patrícia Karen et al . Análise da composição bioquímica da pele por espectroscopia Raman. **Rev. Bras. Eng. Bioméd.**, Rio de Janeiro , v. 28, n. 3, p. 278-287, Sept. 2012 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-31512012000300009&lng=en&nrm=iso>. access on 23 Feb. 2020. <https://doi.org/10.4322/rbeb.2012.032>.

ORASMO, C.; Você sabe o que é a Síndrome das Unhas Frágeis. 2017.<dra.cinthia@suadermatologista.com.br>. acesso em: 09 de março de 2020.

PANDE, C. M.; JACHOWICZ, J. **Hair photodamage measurement and prevention.** *Journal of the society of Cosmetic Chemists*, v. 44, n.2, p. 109–122, abril, 1993.

PEREIRA, L. et al **Confocal Raman Spectroscopy as an Optical Sensor to Detect Advanced Glycation End Products of the Skin Dermis.** *Sensor Letters* (print), v. 13, p. 791-801, 2015.

PUDNEY, P. A. et al. **Confocal Raman Spectroscopy of Whole Hairs.** *Applied Spectroscopy*, v. 67, Issue 12, Pages 326A-340A and 1349-1484 pp. 1408-1416(9), 2013.

RAMAN, C.V, KRISHNAN, K.S. **A new type of Secondary Radiation**, *Nature* v 121, p. 501, 1928.

RAMAN, C.V; KRISHNAN, K.S. **A new type of Secondary Radiation.** *Nature*, v. 121, p. 501-2, 1928.

RANIERO, L. et al. **In and ex vivo breast disease study by Raman spectroscopy. Theoretical Chemistry Accounts: Theory, Computation, and Modeling** (*Theoretica Chimica Acta*), v. 130, n. 4-6, p. 1239-47, 2011.

REBELLO, Tereza. **Guia de produtos cosméticos.** Editora Senac São Paulo, 2019.

ROSES, C.F.; LEIS, R.P. **Um estudo das condições sócio-econômicas de municípios gaúchos através da análise de cluster.** FECAP. Revista administração on line. v. 3.2002.

SABIN, Guilherme Post et al . Desenvolvimento de um algoritmo para identificação e correção de spikes em espectroscopia Raman de imagem. **Química Nova**, São Paulo , v. 35, n. 3, p. 612-615, 2012 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000300030&lng=en&nrm=iso>. access on 23 Feb. 2020. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300030>.

SANTOS, L. et al **In vivo intra- and inter-individual variability study of human stratum corneum by confocal Raman spectroscopy.** Vibrational Spectroscopy (Print), v. 87, p. 199-206, 2016.

SANTOS, Vanessa Sardinha dos. "Unhas"; *Brasil Escola*, 2015. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/biologia/unhas.htm>. Acesso em 10 de janeiro de 2020.

SANTOS, Adrielle R., et.al.; **A aplicação da Espectroscopia Raman na caracterização de minerais pertencentes a uma geocoleção.** Química Nova. Jul, 2019, v.42. p. 489 a 496.

SCHUT, S. J; TRUSHKOWSKY, R. D; PARAVINA, R.D; **Dental color matching instruments and systems.** Review of clinical and research aspects. J Dent., v. 38 p. 16, 2010.

SCHER, K. **Brittle Nails:** pathogenesis and treatment. J Drugs Dermatol., v. 2, p. 48-52, 2003.

SCHLUCKER, S., et al **Conformational differences in protein disulfide linkages between normal hair and hair from subjects with trichothildystrophy: a quantitative analysis by Raman microspectroscopy.** Biopolymers, v. 82, p. 615–622, 2006.

SHARMA, A. et al. Raman spectroscopy: Incorporating the chemical dimension into dermatological diagnosis. **Indian journal of dermatology**, v. 61, n. 1, p. 1, 2016.

SHERBER, Noelle S. et al. Efficacy and safety study of tazarotene cream 0.1% for the treatment of brittle nail syndrome. **Cutis**, v. 87, n. 2, p. 96-103, 2011.

SHIN, M.K. et al **Changes in nail keratin observed by Raman spectroscopy after Nd:YAG laser treatment.** Microsc Res Tech. doi:10.1002/jemt.22734, 2016.

TEIXEIRA, A. P. et al. Confocal Raman spectroscopy: determination of natural moisturizing factor profile related to skin hydration. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 30, n. 1, p. 11-6, 2014.

TÉLLEZ S, C.A. **RM1 semi empirical and DFT: B3LYP/3-21G theoretical insights on the confocal Raman experimental observations in qualitative water content of the skin dermis of healthy young, healthy elderly and diabetic elderly women.** *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy (Print)*, v. 149, p. 1009-1019, 2015.

TORTORA, G.J.; NIELSEN, M.T.; **Princípios da Anatomia Humana.** 12^aed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2016.

TOSATO, M. G. et al. **Raman Spectroscopic Investigation of the Effects of Cosmetic Formulations on the Constituents and Properties of Human Skin.** *Photomedicine and Laser Surgery*, v. 30, p. 85-91, 2012.

VAN de GRAFF, K. M.; RHEES, R. W. **Anatomia e Fisiologia humana,** 1991.

WALTERS, K. A.; LANE, M. E. **The Human Nail: Structure, Properties, Therapy and Grooming.** *Cosmetic Formulation: Principles and Practice*, p. 77, 2019.

WILLIAMS, A.C. et al **Raman spectra of human keratotic biopolymers: Skin, callus, hair and nail.** *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 25, n. 1, p. 95–98, 1994.

ZAIAS, N. **The nail in health and disease.** Norwalk: Appleton & Lange, 2^a ed. 1991.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETERMINAÇÃO DA PERMEAÇÃO DE PRODUTO COSMÉTICO FORTIFICADOR DE UNHA HUMANA POR ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL

Pesquisador: Airton Abrahao

Martin Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 66495517.5.0000.5494

Instituição Proponente: Universidade Camilo Castelo Branco

Patrocinador Principal: COSMED INDUSTRIA DE COSMETICOS E MEDICAMENTOS S.A.

DADOS DO PARECER

Número do Parecer:

2.013.337

Apresentação do Projeto:

A presente pesquisa tem como objetivo verificar a potencialidade da técnica de espectroscopia Raman confocal de determinar a permeação de 1 (um) produto cosmético fortificador pela unha humana in vivo. Neste estudo, serão recrutados 10 voluntários com idade entre 19 a 55 anos. Antes das medidas Raman, as regiões de aplicação selecionadas nas unhas serão delimitadas (Região 1: Controle (sem aplicação de produto); Região 2: Produto cosmético com esmalte; Região 3: Produto cosmético sem esmalte). As regiões serão limpas retirando as sujidades que possam vir a influenciar nos resultados. Os dados serão avaliados por meio de análise de variância com posthoc.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário

Avaliar a capacidade da técnica de espectroscopia Raman confocal de determinar e detectar a permeação 1

Endereço:	RUA CAROLINA FONSECA, 584		
Bairro:	ITAQUERA	CEP:	08.230-030
UF:	SP	Município:	SAO PAULO
Telefone:	(11)2070-0167	E-mail:	comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br



(um) produto cosmético fortificantes pela unha humana

Objetivo Secundário

Medir comparativamente, por espectroscopia Raman confocal, a presença de um produto cosmético aplicados em unhas humanas esmaltadas ou não esmaltadas.

Continuação do Parecer: 2.013.337

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos desta pesquisa serão mínimos e os proponentes declaram que o voluntário poderá desistir de participar da pesquisa a qualquer momento;

Um benefício indicado pelos autores é o possível desenvolvimento de uma técnica que possa determinar, com exatidão, a presença de um produto cosmético na unha de maneira não invasiva e em tempo real.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O Tema proposto pelos autores é relevante e importante pois visa verificar a potencialidade da técnica de espectroscopia Raman confocal de determinar a permeação de 1 (um) produto cosmético fortificador pela unha humana in vivo. A introdução e o método estão bem delineados. Os resultados apresentados propiciaram uma discussão adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Endereço:	RUA CAROLINA FONSECA, 584		
Bairro:	ITAQUERA	CEP:	08.230-030
UF:	SP	Município:	SAO PAULO
Telefone:	(11)2070-0167	E-mail:	comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br



O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido menciona os riscos e benefícios da realização da pesquisa e ressalta a garantia dos direitos dos sujeitos da pesquisa quanto à informação e privacidade e encaminhamento indicando que os itens mencionados, estão sob responsabilidade do orientador, dos alunos e da instituição onde os dados serão coletados em consonância a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. As informações aos sujeitos da pesquisa sobre o acesso ao pesquisador e o CEP estão contempladas no TCLE. O projeto contempla a carta assinada do local onde serão coletados os dados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A proposta esta adequada

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado acatou o parecer do relator e o protocolo de pesquisa ficou na situação de APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_884427.pdf	20/03/2017 17:23:07		Aceito

Página 02 de

Continuação do Parecer: 2.013.337

Folha de Rosto	folhaDeRostoAssinada.pdf	20/03/2017 17:19:14	Airton Abrahao Martin	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	CEPunha19_3_17.docx	20/03/2017 04:24:26	Airton Abrahao Martin	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_unha19_3_17.docx	20/03/2017 04:14:43	Airton Abrahao Martin	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 584
Bairro: ITAQUERA CEP: 08.230-030
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2070-0167 E-mail: comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br



UNIVERSIDADE CAMILO
CASTELO BRANCO -
UNICASTELO



Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 12 de Abril de 2017

Assinado por:
SILVIA CRISTINA NUNEZ
(Coordenador)

Endereço: RUA CAROLINA FONSECA, 584

Bairro: ITAQUERA

CEP: 08.230-030

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2070-0167

E-mail: comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br