

Comparação entre alfa-hidroxiácidos e poli-hidroxiácidos na cosmética e dermatologia

Parallel between alpha hydroxy acids and poly hydroxy acids in cosmetology and dermatology

Ana Paula Barquet¹, Ana Paula G. Funck¹ & Letícia Scherer Koester^{2*}

RESUMO – A preocupação com a saúde da pele vem crescendo e, conseqüentemente, estimula o lançamento de novos produtos que satisfaçam este público alvo. Assim, faz-se necessário analisar as vantagens do uso de novas matérias-primas. O presente trabalho traz uma revisão atualizada sobre o uso de alfa e poli-hidroxiácidos, suas propriedades físico-químicas, mecanismos de ação, indicações e efeitos adversos. Os alfa-hidroxiácidos são substâncias tradicionalmente utilizadas em formulações anti-envelhecimento, no tratamento de xerose, acne e ictiose. Seus efeitos devem-se principalmente à separação dos corneócitos na pele, o que provoca leve descamação. Entretanto, seu uso freqüentemente causa efeitos adversos, tais como irritação e ardência no local de aplicação, não sendo indicados para pessoas com pele sensível. Como alternativa, foi lançada uma nova geração de hidroxiácidos, conhecidos por poli-hidroxiácidos, cujo principal representante é a gluconolactona, a forma lactona do ácido glucônico. Esta classe apresenta moléculas maiores, o que reduz os efeitos adversos causados pelos alfa-hidroxiácidos, pois penetram mais lentamente na pele. Além disso, são umectantes e antioxidantes, auxiliando na prevenção do fotoenvelhecimento. Neste sentido, foi possível observar que há vários benefícios no uso de poli-hidroxiácidos em relação aos alfa-hidroxiácidos.

PALAVRAS-CHAVE – Alfa-hidroxiácidos, poli-hidroxiácidos, descamação, pele, cosmética, dermatologia.

SUMMARY – The concern with the appearance, mainly with respect to the skin, comes growing and consequently stimulates the launching of new products that satisfy this target public. Then, it is necessary to analyze the advantages of the new raw materials used. The present work is an updated revision about the use of alpha and poly hydroxyacids, its physical-chemical properties, mechanisms of action, indications and adverse effects. The alpha hydroxyacids are organic carboxylic acids that present a hydroxyl group in the alpha position. These substances are traditionally used in anti-aging formulations as well as in the treatment of xerosis, acne and ictiosis. Their effects are due to the separation of the corneocytes in the skin and consequent scaling of. However, they frequently cause adverse effects, such as irritation and burning in the local of the application, therefore, they are not indicated for people with sensitive skin. As an alternative, a new generation of hydroxyacids was launched, known as poly hydroxyacids, whose main representative is the gluconolactone, the lactone form of gluconic acid. This class presents larger molecules, which reduce adverse effects caused by alpha hydroxyacids, once they penetrate more slowly in the skin. Moreover, they present more hydroxyl groups, which can attract and fix water molecules, being umectant agents. Another advantage of polyhydroxy acids use is its antioxidant property that aids in the prevention of the photoaging. In this way, it was possible to observe that there are many benefits in using poly hydroxyacids in comparison to alpha hydroxyacids.

KEYWORDS – Alpha hydroxyacids, poly hydroxyacids, scaling of, skin, cosmetology, dermatology.

INTRODUÇÃO

As opções de produtos disponíveis no mercado para o tratamento da pele estão aumentando, através do lançamento de novas matérias-primas, com a finalidade de manter ou melhorar a eficácia e diminuir efeitos adversos.

Os alfa-hidroxiácidos (AHAs) são substâncias tradicionalmente utilizadas na cosmética e dermatologia, exercendo ações benéficas na pele. Estes compostos produzem efeitos específicos sobre o estrato córneo, a epiderme, a papila dérmica e folículos pilosebáceos (Yu & Van Scott, 1989; Nardin & Guterres, 1999). Entretanto, por apresentarem moléculas de baixo peso mo-

lecular, penetram rapidamente na pele, podendo provocar ardência e queimação.

O interesse por novas matérias-primas que contornassem esses efeitos adversos permitiu o lançamento dos poli-hidroxiácidos (PHAs), que devido a diferenças estruturais apresentam vantagens em relação aos AHAs. Entretanto, como os alfa-hidroxiácidos são prescritos desde 1974, existem mais informações disponíveis sobre estes e por isso ainda são mais utilizados na terapêutica.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão atualizada sobre AHAs e compará-los com a nova geração de hidroxiácidos, os PHAs, demonstrando os benefícios do uso de hidroxiácidos e desta nova opção para tratamento de peles sensíveis.

Recebido em 29/5/2006

¹Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); ²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, UFSC, Campus Universitário Trindade, Bloco K, CEP 88.040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

1. Tipos de AHA e PHA

Os alfa-hidroxiácidos (AHAs) são ácidos carboxílicos, formados a partir de aminoácidos (Yu & Van Scott, 2004).

Estes compostos são encontrados na natureza, em plantas, animais e microorganismos. Participam de vários processos metabólicos, como o Ciclo de Krebs e a glicólise (Berardesca, 2001). Alguns AHAs são produtos intermediários e/ou metabólitos no metabolismo de carboidratos, como o ácido cítrico e ácido málico (Yu & Van Scott, 2004).

Os AHAs mais utilizados em cosméticos são o ácido glicólico e o ácido láctico, sendo agentes de descamação e emolientes da pele. Entre os AHAs estão também o ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido mandélico e ácido benzílico (Yu & Van Scott, 1989; Nardin & Guterres, 1999).

Assim como os AHAs, os poli-hidroxiácidos (PHAs) são ácidos carboxílicos que possuem grupamento hidroxila, sendo os representantes mais comuns o ácido glucônico e o ácido lactobiônico. O primeiro, comercialmente disponível na sua forma lactona, como gluconolactona, tem sido aplicado de várias formas não medicamentosas, por exemplo na indústria de laticínios e cerveja. A gluconolactona é um componente natural da pele e não-tóxico (Devlin *apud* Bernstein *et al.*, 2001).

O ácido lactobiônico é comumente encontrado no leite, tendo amplo uso comercial, devido a sua forte atividade antioxidante, em soluções para preservação de órgãos transplantados, suprimindo danos teciduais causados por radicais hidroxila durante o armazenamento do órgão (Green *et al.*, 2001).

A galactose presente no ácido lactobiônico é utilizada no metabolismo da pele humana de três formas: durante a síntese de proteoglicanas, por meio da ligação covalente entre as glicosaminoglicanas e os açúcares xilose e galactose; durante a síntese de pró-colágeno em fibroblastos e, como um componente de glicoproteínas que contribuem para a migração celular (Green *et al.*, 2001).

Na **Figura 1** é possível visualizar a estrutura de AHAs e PHAs e alguns exemplos.

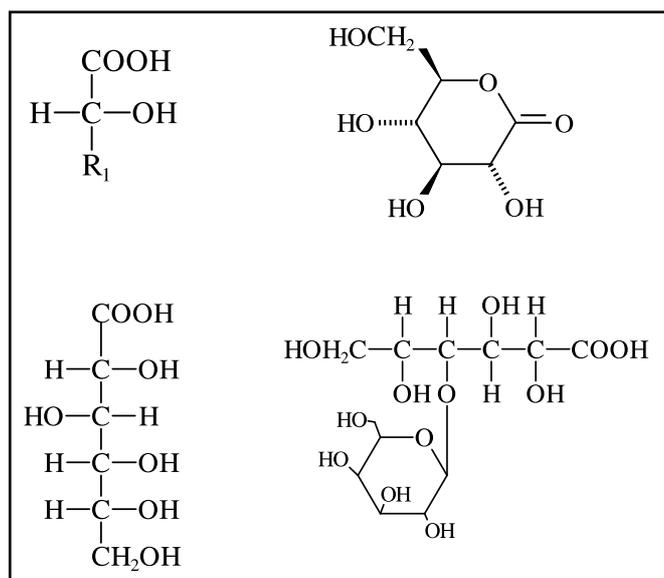


FIG. 1 - (a) estrutura geral dos alfa-hidroxiácidos: ácido glicólico ($R_1 = H$), ácido láctico ($R_1 = CH_3$), e ácido tartárico ($R_1 = CHOH-COOH$); (b) estrutura da gluconolactona; (c) estrutura do ácido glucônico; (d) estrutura do ácido lactobiônico.

2. Características físicas, químicas e físico-químicas

Os AHAs possuem um grupo carboxila terminal com um ou dois grupamentos hidroxila na posição alfa e uma cadeia carbônica de comprimento variável (Nardin & Guterres, 1999).

O ácido glicólico é o AHA de menor estrutura, possuindo dois carbonos (Yu & Van Scott, 1989; Nardin & Guterres, 1999; Berardesca, 2001). O ácido láctico apresenta três carbonos em sua estrutura, podendo converter-se na sua forma cetônica, o ácido pirúvico (Yu & Van Scott, 1989; Nardin & Guterres, 1999). Já o ácido cítrico apresenta seis carbonos (Yu & Van Scott, 1989).

Diferentemente dos AHAs, os PHAs contêm dois ou mais grupos hidroxila, não necessariamente na posição alfa, formando uma estrutura molecular alifática ou alicíclica (Yu & Van Scott, 1996; Green *et al.*, 2001). Quando a molécula possui um dos grupos hidroxila na posição alfa, é chamado de alfa-hidroxi poli-hidroxiácido (Green *et al.*, 2001).

Os PHAs são comercializados como ácidos livres ou sob a forma de lactonas (Yu & Van Scott, 1996). A gluconolactona apresenta quatro hidroxilas, enquanto que na forma de ácido glucônico, apresenta cinco hidroxilas (Budavari *apud* Bernstein *et al.*, 2001). A forma de sal é geralmente empregada em medicamentos e suplementos nutricionais para minimizar irritações gastrointestinais (*Drug facts and comparisons apud* Bernstein *et al.*, 2001).

A gluconolactona apresenta-se como cristais com gosto adocicado característico, com ponto de fusão de $153^\circ C$. É possível solubilizar 59g da substância em 100mL de água, enquanto apenas 1g solubiliza-se na mesma quantidade de etanol, sendo insolúvel em éter. Para que haja penetração da substância na pele, o pH deve encontrar-se na faixa de 3,5 a 4,5 (Fonseca & Ferreira, 2004). Na presença de água, a gluconolactona hidroliza-se em ácido glucônico com pKa de 3,6. Portanto, em uma preparação em pH 3,6, 50% do ácido livre está biodisponível (Yu & Van Scott, 1996).

Outro PHA bastante conhecido é o ácido lactobiônico. Esta substância é composta por uma molécula de D-galactose e uma molécula de ácido D-glucônico, unidos via ligação acetal. É livremente solúvel em água, pouco solúvel em metanol, etanol e ácido acético glacial (O'Neil *et al.*, 2001). Este ácido é formado pela oxidação da lactose (Charloux *apud* Green *et al.*, 2001).

As interações dos AHAs com a pele ocorrem geralmente através de seus grupos funcionais, como ácido carboxílico e hidroxila alcoólica (Nardin & Guterres, 1999). Na maioria das formulações, os AHAs são neutralizados com bases orgânicas ou inorgânicas, para aumentar o pH de 2 para 3 a 5, já que seus valores de pH iniciais são demasiadamente baixos para a pele, que está entre 4,2 e 5,6 (Yu & Van Scott, 1996; Nardin & Guterres, 1999). Para exercer atividade sobre a pele, estas substâncias devem ter o grupo hidroxila neutralizado, e não ter caráter ácido. Para tanto, o grupo carboxila deve ser atacado por um carbono não aromático, de preferência uma cadeia carbônica alquila. Sabe-se também que a forma amida ou éster é menos efetiva (Yu & Van Scott, 2004). Outra forma de reduzir a acidez dos AHAs é esterificar o grupo carboxila através da reação com álcool (Nardin & Guterres, 1999).

Também é importante ressaltar que um AHA na forma de ácido livre é mais disponível para penetração cutânea que o seu sal. A razão disso seria a capacidade de dissociação que os sais metálicos apresentam,

formando a partir dele íon metálico e íon AHA, e esses não penetram no estrato córneo da pele intacta assim como os AHAs, já que são moléculas grandes (Yu & Van Scott, 1996; Nardin & Guterres, 1999).

Já os PHAs, por ter tamanho maior, penetram na pele mais suavemente e gradualmente que os AHA, sem provocar desagradáveis sensações na pele. O ácido glicólico, por ser uma molécula menor, penetra na pele mais rapidamente e é freqüentemente associado à ardência e queimação. O potencial hidratante da gluconolactona é atribuído às propriedades umectantes dos múltiplos grupos hidroxila, que podem atrair e fazer pontes de hidrogênio com a água (Yu & Van Scott, 1996).

3. Veículo

Os hidroxiácidos (HA) podem ser utilizados com qualquer veículo, exceto gel à base de Carbopol®. Deve-se utilizar um veículo adequado ao estado da pele tratada, preferindo-se um veículo oclusivo no caso de psoríase, uma emulsão óleo em água para peles muito secas e uma emulsão água em óleo para peles com eczema (Yu & Van Scott, 1996).

É importante levar em consideração a existência de alguns componentes de veículos que interferem nos efeitos dos AHAs, como a glicerina, que por ser uma substância umectante, apresenta uma forte afinidade pelos AHAs solúveis em água. Portanto, como a glicerina não penetra no estrato córneo, ela afeta a penetração e conseqüentemente o efeito dos AHAs. Já o propilenoglicol pode influenciar a penetração de AHAs pois modifica a permeabilidade do estrato córneo (Yu & Van Scott, 1996).

4. Mecanismo de ação

O mecanismo de ação dos AHAs ainda não está totalmente elucidado, mas autores afirmam não existir receptores específicos para AHAs na pele humana (Nardin & Guterres, 1999; Yu & Van Scott, 2004).

No estrato córneo, pequenas concentrações de AHA diminuem a coesão entre os corneócitos (Nardin & Guterres, 1999; Yu & Van Scott, 1996; Berardesca *et al*, 1997; Berardesca, 2001; Yu & Van Scott, 2004). Estes compostos atuam por interferir com a ligação iônica intercelular, já que as moléculas que apresentam o grupamento hidroxila tendem a formar pontes de hidrogênio, ou pela suposição de que o abaixamento do pH da pele, pelo uso de AHA, pode romper estruturas que mantêm as células epidérmicas unidas. Sugere-se ainda a possibilidade de inibição enzimática, induzida pelos AHAs, de reações da sulfato transferase, fosfo-transferase e quinases, levando poucos grupamentos fosfato e sulfato eletronegativos para a camada externa dos corneócitos, resultando na diminuição das forças de coesão (Nardin & Guterres, 1999; Berardesca, 1997; Berardesca, 2001). Os AHAs influenciam as ligações iônicas por 3 mecanismos: por atuar na distância entre cargas, no número de cargas e no meio entre elas. Quando o estrato córneo está hidratado, a distância entre os corneócitos aumenta e, portanto, a coesão entre eles diminui (Berardesca, 2001).

Assim, os AHAs facilitam a descamação da pele, ocorre um aumento da síntese e do metabolismo do DNA basal, diminuindo a espessura do estrato córneo, já que ocorre um esprendimento dos corneócitos nas camadas inferiores e em formação no estrato córneo, acima do estrato granuloso (Nardin & Guterres, 1999).

A descamação é benéfica cosmeticamente, pois leva

a uma textura mais lisa da superfície da pele, alivia ou previne a oclusão folicular e limpa os poros. O processo de descamação como um evento solitário pode ser conseguido com curtas exposições a formulações com altas concentrações em baixo pH, sem nenhuma neutralização. Alternativamente, pode ser obtido e mantido com uso diário de formulações contendo AHA em concentrações de 10% ou menos, com o pH em torno de 3,0 (Yu & Van Scott, 1995).

Altas concentrações de AHA apresentam maior capacidade de penetração, mas podem ter uma ação menos específica (Yu & Van Scott, 1989). Quando aplicados em altas concentrações na pele, causam separação dos queratinócitos e epidermólise (Yu & Van Scott, 1989; Berardesca, 2001). Ao agir sobre os queratinócitos, estimulam a proliferação da epiderme, já que aumenta a energia e o estado reduzido dos queratinócitos (Berardesca, 2001). O potencial de irritação, entretanto, existe, e é influenciado pelo pH da fórmula e pela quantidade de ácidos livres presentes. Com 12% de lactato de amônia e outras soluções neutralizadas de AHA, pode-se notar aumento na epiderme sem sinais de inflamação. Em um estudo com 12% de lactato de amônia sob oclusão por quatro dias, observou-se aumento na proliferação epidérmica, sendo que a pele não tratada mostrou 2,5% de mitose, comparada com 6,5% no tratamento com lactato de amônia e 21% com ácido retinóico. A aplicação aberta ou oclusiva demonstrou resultados semelhantes, sugerindo que o primeiro sítio de ação é o estrato córneo. A proliferação epidérmica é o resultado da sinalização de citocinas. Estudos *in vitro* indicam que 12% de lactato de amônia regulam a produção de interleucina 1 (IL-1), que pode fazer parte na subsequente proliferação epidérmica (Leyden *et al*, 1995a). Já a ação sobre os fibroblastos, quando em alta concentração e em veículo apropriado, induz a epidermólise, separação da epiderme e um impacto na derme papilar e reticular, capaz de moldar as alterações dérmicas, incluindo a formação de novo colágeno.

A aplicação tópica de baixas concentrações de AHA (2 a 10%) resulta em aumento das glicosaminoglicanas (GAGs), particularmente de ácido hialurônico. O ácido hialurônico pode reter água numa proporção maior que mil vezes seu peso, sendo que este aumento de GAGs pode ser um importante aspecto na melhora clínica de linhas de expressão e rugas associados ao fotoenvelhecimento (Leyden *et al*, 1995a).

Rendon-Pellerano & Bernstein (1996) citam estudos nos quais foi observado que os AHAs aumentam os receptores de ácido hialurônico, aumentando também a fibronectina. Descrevem também que os AHAs ativam seletivamente o RNA mensageiro, interleucina-1 (IL-1) e os níveis de proteína nos queratinócitos. A IL-1 é relatada como mitogênica para os queratinócitos e fibroblastos, sendo capaz de induzir os fibroblastos a produzir colágeno e GAGs. Estas alterações no parênquima podem ser responsáveis pelas mudanças clínicas que ocorrem na pele, como melhora da tonicidade e textura, diminuição da desidratação e aparência mais saudável.

Em suma, os AHAs têm efeito sobre a forma como os queratinócitos se diferenciam em corneócitos e como eles descamam, têm grandes efeitos corretivos na deficiência de queratinização que causa ou acompanha muitos distúrbios dermatológicos, como ictiose, pele

seca, queratoses e acne. Podem ainda mudar a aparência da pele através da diminuição de sinais de fotoenvelhecimento (Van Scott & Yu, 1995).

A identificação de ações específicas após a administração tópica de AHA depende de fatores como: veículo, modo de aplicação, concentração e potência do AHA, grau de neutralização com álcalis, local de aplicação, características raciais e/ou genéticas da pele e o estado da pele no momento da aplicação (Van Scott & Yu, 1995). A eficácia das formulações que contém AHAs está relacionada com a concentração biodisponível do ácido livre (Berardesca *et al*, 1997) e com o veículo utilizado. Porém, nos casos de formulações tópicas, a biodisponibilidade será a fração de AHA que irá penetrar no estrato córneo da pele na primeira fase da penetração (Yu & Van Scott, 1996).

Além de agirem da mesma forma que os AHAs, os PHAs também possuem forte atividade antioxidante, apresentando vantagens no tratamento do fotoenvelhecimento. Uma substância antioxidante é aquela capaz de prevenir ou inibir a oxidação, através da captura ou supressão da formação ou ação de radicais livres (Yu & Van Scott, 2004). Alguns autores relatam que o ácido lactobiónico possui efeito antioxidante através da quelatação do ferro e da inibição da oxidação de outras substâncias, incluindo substâncias rapidamente oxidáveis, como antralina e hidroquinona (Green *apud* Green *et al*, 2001).

5. Indicações

Os AHAs foram introduzidos na dermatologia pela primeira vez em 1974, quando foram considerados benéficos para o tratamento tópico de dermatoses (Yu & Van Scott, 1996; Nardin & Guterres, 1999). Subseqüentemente, o uso dos AHAs foi ampliado para tratamento de calos, acne, queratoses, verrugas, rugas e pele fotoenvelhecida (Yu & Van Scott, 2004), além de xerose, seborréia, pele actínica, prevenção do envelhecimento intrínseco e extrínseco da pele (Nardin & Guterres, 1999) e atrofia causada pelo uso tópico de glicocorticosteróides (Nardin & Guterres, 1999; Bernstein & Uitto, 1995), além de promover a elasticidade das fibras (Yu & Van Scott, 2001). A nova geração dos hidroxiácidos, ou seja, os PHAs, surgiu para minimizar efeitos adversos, sendo utilizada para os mesmos fins, mas com alguns benefícios sobre os AHAs.

5.1. Ictiose

A ictiose é uma complicação da pele seca, caracterizando-se por apresentar a epiderme espessa e coberta de escamas com aspecto de pele de peixe. É devida a distúrbios em processos epidérmicos fundamentais, levando à diminuição da função de barreira, hiperproliferação de células e reduzida esfoliação. Os HAs contribuem para um maior alívio tópico para essas condições do que os agentes queratolíticos tradicionais, como uréia e ácido salicílico. Os AHAs e os PHAs auxiliam a reduzir o acúmulo de escamas, pois são capazes de normalizar a reposição celular e a esfoliação, podendo estimular a produção de ceramidas para reforçar a função de barreira (Beny, 2003).

Kempers *et al* (1998) relatam um estudo no qual foi utilizada uma formulação contendo 10% de mistura de AHA e PHA, nas duas primeiras semanas de tratamento. Foi observada uma melhora significativa na aparência da pele seca tratada, sendo que este benefício continuou durante o período de duas semanas em que foi realizado o teste. Os efeitos benéficos da formulação fo-

ram maiores no tratamento de ictiose lamelar e vulgar.

5.2. Xerose

Na xerose ocorre um espessamento do estrato córneo que é associado com anormalidades nos lipídios intercelulares encontrados entre os corneócitos da parte superior do estrato córneo. Há decréscimo de ceramidas e aumento nos níveis de ácidos graxos associados com falta de decomposição enzimática normal das junções desmossômicas (Rawlings *et al*, 1993).

Após duas a três semanas de tratamento com lactato de amônio (12%), este espessamento do estrato córneo é substituído por uma membrana compacta com número normal de camadas celulares. Descobriu-se que algumas formulações contendo AHAs podem tornar o estrato córneo mais resistente a substâncias potencialmente irritantes, como os detergentes (Leyden *et al*, 1995b). Segundo Lundstrom & Egelrud (1991), apesar de o mecanismo pelo qual os AHAs revertem este espessamento ainda não estar elucidado, uma possibilidade é que a propriedade destes agentes em reter água ajude a criar um meio nos espaços intercelulares do estrato córneo que facilita a digestão enzimática dos desmossomos.

O uso combinado de AHAs, geralmente pela manhã, e ácido retinóico, à noite, oferece benefícios, pois ambas as classes têm efeitos complementares. Foram realizados estudos utilizando ácido glicólico (2, 4 e 8%) e ácido láctico (5, 10, 12, 20 e 30%), sendo que a xerose melhorou em praticamente todos os pacientes, havendo diminuição de linhas de expressão e rugas, bem como de lesões melanocíticas, porém não no mesmo grau obtido com o uso ácido retinóico (Leyden *et al*, 1995).

Leyden *et al* (1995b) avaliaram o efeito de formulações contendo 2 a 10% de AHA no estrato córneo sem hiperqueratinização, como ocorre na xerose. Os resultados indicaram que poucas camadas celulares mais externas foram removidas (descamação). Já o emprego de altas concentrações (acima de 40%) em valores de pHs muito baixos causa efeitos mais acentuados, pois afeta a coesão das camadas mais profundas de corneócitos, resultando em *peeling*.

5.3. Rosácea

Os AHAs são agentes queratolíticos muito eficientes na rosácea, uma doença crônica e inflamatória que afeta a parte central da face, caracterizando-se por eritema, telangiectasia, pápulas e pústulas recorrentes. Podem representar uma alternativa para os corticosteróides tópicos nas inflamações suaves, já que estes podem agravar a patologia e a pele sensível, piorando a telangiectasia. Os AHAs promovem a melhoria das lesões devido à normalização da queratinização, além do efeito do baixo pH das formulações, o que causa depleção dos nutrientes bacterianos, resultando em diminuição dos patógenos. O aumento de substâncias como o ácido hialurônico, glicosaminoglicanas, fibras elásticas e colágeno na derme causados pelos AHAs também podem tornar a telangiectasia menos visível (Briden & Rendon-Pellerano, 1996).

5.4. Fotoenvelhecimento

Na pele facial fotoenvelhecida, os corneócitos tendem a se acumular, formando finas camadas que tornam a superfície da pele rugosa e seca. Dessa forma, é desejável a remoção dessas camadas para obter uma superfície mais lisa. Daí o uso de AHA para melhorar a aparência

da pele fotoenvelhecida, uma vez que estes compostos reduzem finos vincos, diminuem manchas hiperpigmentadas e realçam a textura da pele (Kligman, 1995).

De acordo com Ditre *et al* (1996), os *peelings* de ácido glicólico podem servir como ponto inicial para muitos pacientes interessados no rejuvenescimento facial, além de poderem ser usados para preparar a pele antes de uma cirurgia, como *lifting* facial.

O ácido glicólico é particularmente benéfico para peles escuras. Entretanto, este tipo de pele inclui alguns riscos, como alto grau de reatividade e grande chance de hiperpigmentação pós-inflamatória. Geralmente, os pacientes mais reativos são aqueles que já sofreram algum dano solar, sendo que os menos reativos são aqueles que possuem acne ou pele oleosa, ou quando a pele já tem certa tolerância ao ácido glicólico (Kakita & Petratos, 1996).

O efeito da gluconolactona em peles sensíveis e fotoenvelhecidas foi avaliado por meio do emprego de um gel de limpeza e tônico contendo ambos 1% da substância, um hidratante diurno com 4% de gluconolactona e FPS 15 (pH 3,7) e um creme noturno com 8% de PHA (pH 3,7). No estudo foi observado que após doze semanas de tratamento, todas as características de fotoenvelhecimento foram reduzidas, incluindo linhas de expressão, rugas, hiperpigmentação e aumento de firmeza. Foi observado também um considerável aumento na escamação. O tratamento não induziu irritações, e sim reduziu alguns sinais de irritação pré-existentes, como eritema, impermeabilidade e formigamento (Green *apud* Bernstein *et al*, 2001).

Foi conduzido um estudo para avaliar os efeitos da gluconolactona no fotoenvelhecimento de peles étnicas. Os grupos foram: afro-americanos, hispânicos, asiáticos e caucasianos. Observou-se que a melhoria na hiperpigmentação e tom irregular da pele foi pior no grupo de pele escura, comparado com os participantes de pele clara. Os sinais mais claros de envelhecimento incluem frouxidão, linhas de expressão e rugas. Após doze semanas de tratamento, todas as etnias exibiram melhora nos sinais de fotoenvelhecimento. Os caucasianos obtiveram piores resultados em relação a condições de hiperpigmentação e textura superficial da pele (Grimes *et al. apud* Bernstein *et al*, 2001).

A gluconolactona oferece proteção contra radiação UV *in vitro*, conforme determinado em um modelo transgênico de pele fotoenvelhecida. Apesar desta substância oferecer proteção devido a sua capacidade de bloquear a radiação UV de menor comprimento de onda, o espectro de absorvância UV mostra que a gluconolactona oferece aproximadamente 50% de proteção proveniente da indução do promotor de elastina. Por ter baixa proteção UV, seu efeito deve ser devido a outros mecanismos que não sejam a absorção direta da radiação, tais como a capacidade de funcionar como agente quelante. Indiretamente, a captação dos radicais livres resulta na proteção contra o fotoenvelhecimento. Como relatado em alguns estudos, os antioxidantes como o ácido ascórbico e alfa tocoferol proporcionam no máximo 50% de proteção UV, sugerindo que aproximadamente 50% dos danos causados pela radiação provém da formação de radicais livres. Por possuir propriedades antioxidantes, a gluconolactona proporciona proteção contra os danos causados por radicais livres produzidos pela exposição solar e inflamação crônica da pele prejudicada pelo sol (Bernstein *et al*, 2004).

O ácido lactobiônico, devido à sua ação antioxidante, também é eficaz na pele fotoenvelhecida, já que a oxidação e degradação da pele são causadas pelos radicais livres gerados através da exposição à radiação UV. É benéfico também por inibir a enzima metaloproteínase, responsável pela degradação da matriz extracelular e da integridade estrutural da pele, contribuindo para a formação de rugas, flacidez e telangiectasia⁶. Há inibidores naturais desta enzima na pele, entretanto a exposição UV e a idade levam ao aumento da atividade da metaloproteínase, resultando em sinais visíveis e morfológicos dos prejuízos causados pelo sol (Thibodeau *apud* Green *et al.*, 2001).

Green *et al.* (2001) descrevem um estudo realizado para avaliar os benefícios anti-envelhecimento de um sérum (pH 3,5) contendo 4% de ácido lactobiônico, 5% de gluconolactona e 2% de ácido mandélico. Os resultados indicaram melhora na pele fotoenvelhecida. Houve também aumento da rigidez e melhora na textura da pele, na profundidade, número e espaçamento das linhas de expressão.

5.5. Acne

Há múltiplas causas de acne, incluindo o aumento da coesão entre corneócitos, resultando em redução da descamação. Isto contribui para a hiperqueratinização que é associada ao desenvolvimento de comedões (Hunt & Barnetson *apud* Bernstein *et al.*, 2001). Os *peelings* de AHAs causam a perda da coesão entre os corneócitos, incluindo a perda dos comedões foliculares (Kligman, 1995; Kakita & Petratos, 1996; Briden *et al*, 1996). Estes compostos suavizam cicatrizes de acne, diminuindo a profundidade, oleosidade, comedões, cistos e lesões papulopustulares (Kakita & Petratos, 1996). Usados em concentrações de 50 a 70%, permitem grande penetração dos ácidos na pele, ocasionando epidermólise subcorneal. Isto promove a abertura de comedões e pústulas, promovendo um efeito de clareamento na pele (Briden *et al.*, 1996).

Uma vez que os PHAs também diminuem a coesão entre os corneócitos e aumentam a descamação, eles podem ser utilizados no tratamento da acne. Para avaliar a eficácia e tolerância dos PHAs, foi realizado um estudo comparando um veículo contendo 14% de gluconolactona e uma loção contendo 5% de peróxido de benzoíla, que é uma substância estabelecida para o tratamento da acne, com propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, queratolíticas e comedolíticas. Este agente é geralmente associado com efeitos irritantes, incluindo secura, prurido e descamação, podendo também induzir a formação de radicais livres. Foi observado que a gluconolactona apresentou-se levemente menos efetiva na redução de lesões não-inflamadas, apesar de ter reduzido o total de lesões, inflamadas e não-inflamadas, assim como o peróxido de benzoíla. Entretanto, causou menos efeitos adversos. Os pesquisadores sugeriram que a eficácia da gluconolactona em reduzir lesões inflamadas pode indicar uma atividade anti-inflamatória da mesma (Hunt & Barnetson, 2001 *apud* Bernstein *et al.*, 2001).

Os PHA podem ter uso adicional como agente de limpeza e hidratante para pacientes com acne que utilizam medicamentos tópicos ou sistêmicos que provocam o ressecamento da pele. Também podem ser utilizados como agentes condicionantes após *peelings* com AHA, tratamentos a laser e microdermoabrasão (Berns-

tein *et al.*, 2001). Os PHAs podem ser uma alternativa para aqueles com pele sensível, que compreendem 40% da população (Draelos apud Bernstein *et al.*, 2001).

5.6. Dermatite e acne rosácea

Bernstein *et al.* (2001) descrevem estudo no qual foram utilizados um gel de limpeza e tônico com 1% de gluconolactona, um hidratante diurno com FPS 15 contendo 4% da substância e um creme noturno com 8% do PHA, com o objetivo de avaliar a eficácia em dermatite atópica e acne rosácea. Notou-se melhora na textura da pele, linhas de expressão, danos causados pelo sol, eritema, inflamação e irritações. A gluconolactona foi bem tolerada e altamente compatível para o tratamento destas patologias, sendo que muitos pacientes foram capazes de diminuir o tratamento medicamentoso devido ao aumento da qualidade da pele ocasionado pelo PHA.

5.7. Esfoliação

Um estudo foi realizado comparando três poli-hidroxiácidos, sendo que o composto A possui cinco carbonos, três hidroxilas e está na forma de lactona; o composto B tem seis carbonos, quatro hidroxilas e também apresenta-se na forma de lactona; já o composto C possui sete carbonos, quatro hidroxilas e está na forma de ácido. Foram preparados cremes na concentração de 8%, com pHs de 3,4, 3,0 e 3,7, respectivamente. As formulações foram aplicadas em mulheres com histórico de xerose, observando-se que a perda de água trans-epidérmica foi menor com o composto A, que também provocou um aumento na hidratação cutânea da região do antebraço, comparando com as outras duas formulações. Já a esfoliação provocada foi menor com os compostos A e C comparando com a área não tratada. Observou-se também que o composto C revelou uma superfície da pele mais lisa, demonstrando que a hidratação cutânea não está diretamente relacionada com a aparência da pele, já que este composto apresentou menores graus de hidratação (Green *et al.*, 1997).

Outwater *et al.* (2001) realizaram um estudo com mulheres saudáveis, com o objetivo de determinar a esfoliação causada por cinco formulações contendo no máximo 6% de gluconolactona. Foram utilizados um creme para as mãos, uma loção corporal, uma loção facial, um creme dia/noite e um creme para a região dos olhos. Para determinar o tempo de esfoliação, foram utilizados sistemas terapêuticos transdérmicos fluorescentes em ambos os antebraços dos indivíduos de estudo, sendo um tratado e outro o controle. Ao retirar os sistemas, a pele fica corada e então é determinado o tempo para que a fluorescência desapareça da superfície da pele. Foi observado que a esfoliação foi acelerada com o uso das formulações, em comparação com a área não tratada. Em média, a fluorescência desapareceu após 17,4-19,7 dias na área tratada e após 22,0-23,6 dias na área não tratada.

A taxa de esfoliação observada por Outwater *et al.* (2001) com o uso de gluconolactona é consistente com estudos realizados com alfa-hidroxiácidos. A aplicação de ácido glicólico (12%) acelerou o tempo de esfoliação quando comparado com a área controle, assim como 5% ou 10% de ácido glicólico em pH 3,0. O mesmo foi observado com ácido láctico em concentrações de 5%, 10% e 15% em pH 3,0 ou ácido láctico em diferentes pHs (10% em pH 2,0, 3,0 e 4,0).

6. Efeitos adversos

Pode-se constatar que as reações de irritação e ardên-

cia usuais podem ser decorrentes de três fatores. O baixo pH da formulação é um deles, porém, este sozinho é apenas uma sensação transitória, devido à presença de íons hidrogênio, mas não pode ser relacionado à irritação intrínseca potencial. Outro fator é a rápida liberação e penetração pela pele da forma ácida dos AHAs presentes no veículo e o terceiro é o estado da pele em condições anormais ou sensíveis (Yu & Van Scott, 2001).

Existem estudos controversos, indicando que o uso de AHAs pode não causar efeitos adversos. Van Scott & Yu (1995) afirmam que um grande número de indivíduos com ictiose têm aplicado formulações contendo AHA continuamente em grandes áreas do corpo por mais de duas décadas sem efeitos adversos detectáveis. Afirmam também que altas concentrações (25%) de AHAs podem ser aplicadas sem causar sinais histológicos de resposta inflamatória celular, ao contrário dos retinóides.

Foi realizado um estudo para demonstrar a compatibilidade da associação de formulações de ácido glicólico com ácido retinóico (Retin-A[®], Ortho Pharmaceuticals) no tratamento da acne vulgaris. Utilizou-se o Retin-A[®] a noite e pela manhã foi usado um creme com 8% de ácido glicólico, sendo que na área controle foi utilizado um hidratante com FPS 12. Observou-se que os sintomas de eritema foram menores na área controle após duas semanas. Entretanto, após quatro semanas, não houve diferença entre a área controle e tratada. Ardência e queimação foram maiores no lado tratado. Os autores concluíram que o ácido glicólico acentua os benefícios terapêuticos do Retin-A[®], sendo que os pacientes com acne podem utilizar a combinação, já que não houve reações adversas mais sérias (Kligman, 1995).

Ainda neste estudo, as formulações foram avaliadas em mulheres possuindo sinais de fotoenvelhecimento. Todas possuíam vincos finos e despigmentação. As manifestações usuais de Retin-A[®] foram observados na maioria das mulheres, principalmente ardência, desidratação, firmeza e ocasionalmente eritema moderado e leve *peeling*. Esses sintomas são os mesmos observados com o uso de Retin-A[®] sozinho. Ao final do estudo, houve melhora nos vincos, manchas e rugas. Cerca de 50% dos pacientes tiveram moderada extinção dos vincos, sendo que em 66% ocorreu uma diminuição da secura acompanhada por uma superfície mais lisa da face (Kligman, 1995).

Foi realizado um estudo comparando ácido láctico, glicólico, tartárico e gluconolactona, todos em cremes a 8%. Não foi observado aumento de eritema, concluindo que estes hidroxiácidos não induzem irritação diretamente. Pode-se deduzir que a irritação geralmente associada a estas substâncias é relativa à formulação, assim como confirmam Yu & Van Scott (1996). Após a aplicação de sistemas terapêuticos transdérmicos contendo lauril sulfato de sódio (agente irritante), foi observado que as áreas tratadas com os produtos apresentaram menor eritema do que a área tratada com o veículo, entretanto os menores valores de eritema foram associados à gluconolactona. Isso demonstra que os PHA fortalecem a barreira natural da pele contra agentes irritantes químicos. Os autores sugerem que o efeito antioxidante dos PHA pode ser um possível mecanismo de resistência à irritação (Berardesca *et al.*, 1997).

Apesar do pH das formulações contendo AHA ser menor que pH da pele, foi descoberto que o aparecimento de irritações que podem aparecer em indivíduos de pele sensível não está unicamente relacionado à

acidez das formulações (Yu & Van Scott, 1996; Yu & Van Scott, 2001), podendo estar relacionada com a absorção rápida dos ácidos livres presentes nas moléculas de AHAs, o que mostra a importância da liberação controlada (Yu & Van Scott, 2001). A presença de lactase e amônio nas formulações pode causar irritações. Aquelas formulações que contêm ácido glicólico ou ácido láctico são mais irritantes a peles sensíveis quando, para a neutralização parcial, é utilizado hidróxido de amônio ao invés de amins orgânicas (Yu & Van Scott, 1996), como arginina. Isto pode ser explicado devido à rápida liberação dos AHAs, do veículo para a pele (Yu & Van Scott, 2001).

Por possuir uma molécula maior, os PHAs penetram na pele mais lentamente, diminuindo a irritação comumente relatada com o uso de AHAs. Entretanto, segundo Bernstein *et al.* (2001), esta penetração mais suave na pele não significa menor eficácia, pois os PHAs oferecem muitos benefícios clínicos, incluindo maior aumento na função de barreira da pele que com o uso dos AHAs.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelo exposto, observa-se que os hidroxiácidos são eficazes no tratamento de ictiose, xerose, fotoenvelhecimento, rosácea e acne. No entanto, os AHAs podem causar irritações e sensação de queimação, por penetrarem rapidamente na pele, devido à sua pequena estrutura molecular. Já os PHAs, por serem moléculas grandes, penetram mais lentamente pela pele, sem causar essas sensações de desconforto e ardência, sendo indicados para pessoas com pele sensível. Além disto, os PHAs parecem apresentar outras vantagens sobre os AHAs, já que são moléculas altamente hidratantes para as quais foram descritas atividades antioxidantes.

Portanto, observa-se por meio deste trabalho a pesquisa e lançamento de novas matérias-primas que busquem manter ou aumentar a eficácia das substâncias tradicionalmente utilizadas na cosmética e dermatologia, além de reduzir seus possíveis efeitos adversos. Entretanto, como os PHAs foram introduzidos no mercado recentemente, ressalta-se a importância da realização de mais estudos comparativos a respeito destas novas substâncias.

REFERÊNCIAS

1. Beny, M.G. Considerações sobre pele seca. *Cosmetics & Toiletries*. 2003 (15): 42-46.
2. Berardesca, E. *et al.* Alpha hydroxiacids modulate stratum corneum barrier function. *British Association of Dermatologists*. 1997 (137): 934-938.
3. Berardesca, E. Alpha hydroxy acids. In: Barel, A.O. *Handbook of Cosmetic Science Technology*. New York: Marcel Dekker Incorporate, 2001. p.311-315.
4. Bernstein, E.F.; Uitto, J. Connective tissue alterations in photoaged skin and the effects of alpha hydroxyl acids. *The Journal of Geriatric Dermatology*. 1995; Suppl A (3): 7A-18A.
5. Bernstein, E.F.; Brown, D.B.; Schwartz, M.D.; Kaidbey, K.; Ksenzenko, S.M. The polyhydroxy acid gluconolactone protects against ultraviolet radiation in an *in vitro* model of cutaneous photoaging. *Dermatol. Surg.* 2004 (30):189-196.
6. Bernstein, E.F.; Green, B.A.; Edison, B.; Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
7. Briden, M.E.; Rendon-Pellerano, M.I. Treatment of rosacea with glycolic acid. *J. Geriatr. Dermatol.* 1996 Suppl B (4): 17B-21B.
8. Briden, M.; Kakita, L.S.; Petratos, M.A.; Rendon-Pellerano, M.I. Treatment of acne with glycolic acid. *J. Geriatr. Dermatol.* 1996 Suppl B (4): 22B-27B.
9. Budavari, S. (Ed.). *The Merck Index*. 12th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co.; 1996; 757-758. *apud* Bernstein, E.F.; Green, B.A.; Edison, B.; Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
10. Charloux, C.; Paul, M.; Louisance, D.; Astier, A. Inhibition of hydroxyl radical production by lactobionate, adenine, and tempol. *Free Radical Bio & Med.* 1995; 19(5): 699-704. *apud* Green, B.A.; Edison, B.L.; Wildnauer, R.H.; Sigler, M.L.

Lactobionic acid and gluconolactone: PHAs for photoaged skin. *Cosmetic Dermatology*. 2001 (9): 24-28.

11. Devlin, T.M. (Ed.). *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 3d. ed. New York: Wiley-Liss, chapter 8. *apud* Bernstein, E.F., Green, B.A., Edison, B., Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
12. Ditre, C.M.; Nini, K.T.; Vagley, R.T. Practical use of glycolic acid as a chemical peeling agent. *J. Geriatr. Dermatol.* 1996 Suppl B (4): 2B-7B.
13. Draelos, Z.D. Sensitive skin: perceptions, evaluation, and treatment. *Am J Contact Dermat* 1997; 8: 67-78. *apud* Bernstein, E.F., Green, B.A., Edison, B., Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
14. *Drug Facts and Comparisons*. St. Louis, Mo: Facts and Comparisons; 1992; 14a, 14f, 65. *apud* Bernstein, E.F., Green, B.A., Edison, B., Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
15. Fonseca, S.C.; Ferreira, A.O. *Novidades Magistrais: compêndio de atualização em matérias-primas*. São Paulo, 2004. p. 104-109. 156p.
16. Green, B.A.; Edison, B.L.; Wildnauer, R.H.; Sigler, M.L. Lactobionic acid and gluconolactone: PHAs for photoaged skin. *Cosmetic Dermatology*. 2001 (9): 24-28.
17. Green, B.; Wildnauer, R.; Milligan, D.; Grove, G. Comparative clinical efficacy of three novel polyhydroxy alpha-hydroxyacids using instrumental assessment. *Amer. Acad. of Derm., Poster Exhibit*, San Francisco, 1997.
18. Green, B.A. Lactobionic Acid. *Skin Inc.* 2000; 12: 62-65. *apud* Green, B.A., Edison, B.L., Wildnauer, R.H., Sigler, M.L. Lactobionic acid and gluconolactone: PHAs for photoaged skin. *Cosmetic Dermatology*. 2001 (9): 24-28.
19. Green, B.; Tseng, C.; Wildnauer, R.; Herndon, J.; Rizer, R. Safety and efficacy of a gluconolactone (polyhydroxy acid) containing regimen on sensitive skin and photodamage following controlled consumer use. *Amer. Acad. of Derm. Poster Exhibit*: New Orleans, March, 1999. *apud* Bernstein, E.F., Green, B.A., Edison, B., Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
20. Grimes, P.; Edison, B.L.; Green, B.A.; Wildnauer, R. Evaluation of inherent differences in ethnic skin types and response to topical polyhydroxy acid (PHA) use. *Amer Acad of Derm Poster Exhibit*: Washington CD, March, 2001. *apud* Bernstein, E.F., Green, B.A., Edison, B., Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
21. Hunt, M.; Barnetson, R. A comparative study of gluconolactone versus benzoyl peroxide in the treatment of acne. *Austral. J. Dermatol.* 1992 (33): 131-134. *apud* Bernstein, E.F., Green, B.A., Edison, B., Wildnauer, R.H. Poly hydroxyl acids (PHAs): clinical uses for the next generation of hydroxy acids. *Skin & Aging*. 2001.
22. Kakita, L.S.; Petratos, M.A. The use of glycolic acid in Asian and darker skin types. *J. Geriatr. Dermatol.* 1996 Suppl B (4): 8B-11B.
23. Kempers, S.; Katz, H.L.; Wildnauer, R.; Green, B. An Evaluation of the effect of an Alpha Hydroxy Acid- blend skin cream in the cosmetic improvement of symptoms of moderate to severe xerosis, epidermolytic hyperkeratosis, and ichthyosis. *Therapeutics for the clinician*. 1998 (61): 347-350.
24. Kligman, A.M. The compatibility of combinations of glycolic acid and tretinoin in acne and in photoaged facial skin. *J. Geriatr. Dermatol.* 1995 Suppl A(3): 25A-28A.
25. Leyden, J.J.; Lalker, R.M.; Grove, G.; Kaidbey, K. Alpha hydroxy acids are more than moisturizers. *J. Geriatr. Dermatol.* 1995a Suppl A (3): 33A-37A.
26. Leyden, J.J.; Lavker, R.M.; Kaidbey, K. Uva – A more important factor in chronic photodamage than previously recognized. *J. Geriatr. Dermatol.* 1995b; Suppl A (3): 29A-32A.
27. Lundstrom, A.; Egelrud, J. Stratum corneum chymotryptic enzyme: a proteinase which may be generally present in the stratum corneum and with a possible involvement in desquamation. *Acta Dermatol. Venereol.* 1991 (71): 471-474.
28. Nardin, P.; Guterres, S.S. Alfa-hidroxiácidos: Aplicações cosméticas e dermatológicas. *Caderno de Farmácia*. 1999 (15): 7-13.
29. O'Neil, M.J.; Smith, A.; Heckelman, P.E. *The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 13 ed. Whitehouse Station: Merck & CO; 2001. p. 8567.
30. Outwater, S.; Kohut, B.E.; Greenspan, A.H.; Edison, B.; Ciociola, A. An evaluation of the exfoliation efficacy of skin care formulations containing the poly hydroxy acid, gluconolactone. *Skin & Aging*. Sep. 2001; 26-30.
31. Rawlings, A.V.; Hope, J.; Rogers, J.; Mayo, A.M.; Watkinson, A.; Scott, I.R. Skin diagnosis – what is it? *J. Invest. dermatol.* 1993 (100):510.
32. Rendon-Pellerano, M.I.; Bernstein, E.F. The use of glycolic acid in the management of xerosis and photoaging. *J. Geriatr. Dermatol.* 1996 Suppl B (4): 12B-16B.
33. Thibodeau, A. Metalloproteinase inhibitors. *Cosmet. Toil.* 2000; 115(11): 75-76. *apud* Green, B.A., Edison, B.L., Wildnauer, R.H., Sigler, M.L. Lactobionic acid and gluconolactone: PHAs for photoaged skin. *Cosmetic Dermatology*. 2001 (9): 24-28.
34. Van Scott, E.J.; Yu, R.J. Actions of alpha hydroxy acids on skin compartments. *J. Geriatr. Dermatol.* 1995 Suppl A (3): 19A-24A.
35. Yu, R.J.; Van Scott, E.J. Alpha hydroxyacids: therapeutic potentials. *Canad. J. Dermatol.* 1989 1 (5): 108-112.
36. Yu, R.J.; Van Scott, E.J. Alpha-hydroxyacids and carboxylic acids. *Cosmet. Dermatol.* 2004 (3):76-87.
37. Yu, R.J.; Van Scott, E.J. Bioavailability of Alpha-hydroxy acids in topical formulations. *Cosmet. Dermatol.* 1996 (9): 54-62.
38. Yu, R.J.; Van Scott, E.J. A Discussion of Control-Release Formulations of AHAs. *Cosmet. Dermatol.* Oct. 2001; 15-18.

Endereço para correspondência
Leticia Scherer Koester
E-mail: leticiakoester@gmx.net