

## ESTUDO DAS ALTERAÇÕES MOLECULARES RELACIONADAS COM A IDADE DA PELE DA ORELHA DE PORCO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA E FTIR-ATR

Luciane Guarnieri Brodbeck (PIC/UEM), Lidiane Vizioli de Castro Hoshino (Orientadora), Francielle Sato (Coorientadora). E-mail: lvchoshino2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR.

**Ciências Exatas e da Terra / Física**

**Palavras-chave:** Envelhecimento da pele; composição molecular; análise espectral.

### RESUMO

Este estudo investigou as alterações moleculares na pele da orelha de porco associadas ao envelhecimento utilizando PAS e FTIR-ATR. Amostras de pele foram coletadas de suínos em diferentes idades e analisadas para identificar mudanças na estrutura e composição química da epiderme e derme. As análises por PAS e FTIR-ATR mostraram diferenças espectrais, principalmente na derme, indicando um aumento na intensidade das bandas relacionadas ao colágeno com o envelhecimento. Estes resultados contribuem para a compreensão do envelhecimento cutâneo e podem auxiliar no desenvolvimento de novos tratamentos tópicos adaptados a diferentes idades.

### INTRODUÇÃO

A pele é um órgão multifuncional, composto por três camadas: epiderme, derme e hipoderme, cuja principal função é atuar como uma barreira protetora contra agressões externas. Com o envelhecimento, que pode ser influenciado por fatores intrínsecos e extrínsecos, ocorrem mudanças significativas na estrutura e nas características da pele. Essas mudanças incluem modificações bioquímicas nos tecidos, especialmente nas proteínas, como a queratina e o colágeno, que desempenham papéis essenciais na manutenção da integridade e funcionalidade da pele (Nguyen *et al.*, 2014).

Técnicas como a espectroscopia fotoacústica (PAS) e a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR) são amplamente reconhecidas por sua capacidade de analisar a composição molecular de amostras biológicas de forma não destrutiva. Essas técnicas já foram

utilizadas para avaliar as mudanças moleculares associadas ao envelhecimento e às proteínas presentes em tecidos (Greve *et al.*, 2008) (Ames *et al.*, 2017) (Nguyen *et al.*, 2014).

Neste contexto, nosso estudo tem como objetivo avaliar as mudanças na estrutura molecular e nas propriedades químicas da pele da orelha de porco, um modelo amplamente aceito devido às suas semelhanças fisiológicas com a pele humana, utilizando as técnicas de PAS e FTIR-ATR.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Preparação das amostras*

O procedimento experimental foi realizado utilizando amostras de orelhas de suínos brancos e recém-abatidos, doadas pelo abatedouro da Fazenda Experimental da UEM (autorizada pelo Ministério da Agricultura do Brasil para consumo humano). Os animais foram divididos em quatro grupos (n=3 animais/grupo). O grupo 1 foi composto por animais de 10 kg, com idade entre 28 e 35 dias. O grupo 2 foi composto por animais de 40 kg, com idade entre 77 e 84 dias. O grupo 3 foi composto por animais de 70 kg, com idade entre 112 e 119 dias. O grupo 4 foi composto por animais de 100 kg, com idade entre 140 e 147 dias. As orelhas foram limpas com água ultrapura e dissecadas para a remoção da cartilagem e da gordura subcutânea. Somente peles íntegras, sem hematomas ou feridas, foram utilizadas. As amostras foram armazenadas a -18 °C até a data de utilização.

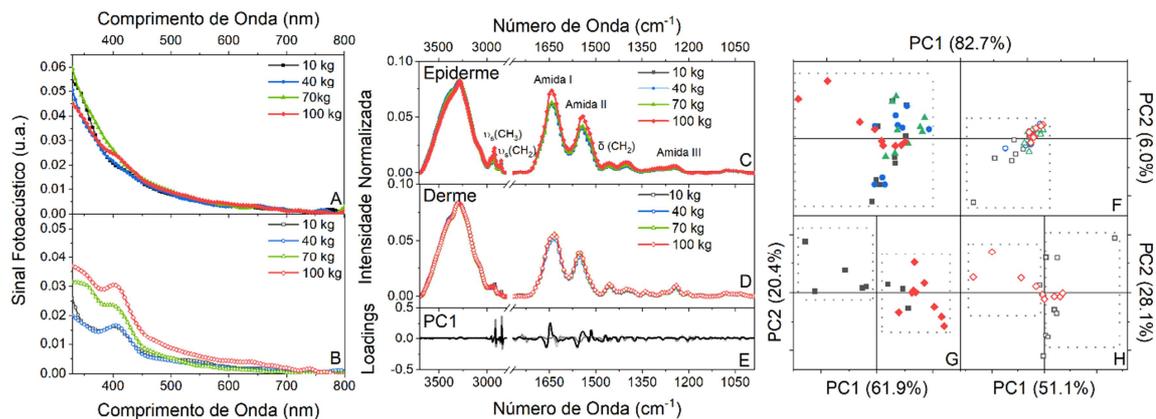
Os espectros PAS foram obtidos utilizando uma montagem experimental caseira; mais detalhes podem ser encontrados em Ames *et al.*, 2017. A potência da lâmpada foi de 800 W e a frequência de modulação foi de 13 Hz.

Os espectros FTIR-ATR foram obtidos utilizando um espectrômetro infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) com acessório de refletância total atenuada (ATR) (Bruker Optik GmbH, Vertex 70v), com um cristal de ATR de diamante. A faixa espectral estudada foi de 4000 - 400  $\text{cm}^{-1}$ , com 128 varreduras e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Os dados foram corrigidos por linha de base e normalizados pela área total do espectro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, as técnicas PAS e FTIR-ATR foram aplicadas para investigar as alterações moleculares na pele da orelha de porco associadas ao envelhecimento. Os dados espectrais obtidos por PAS mostraram mudanças na derme, com um aumento de intensidade na banda abaixo de 400 nm, indicando alteração no

colágeno (Figura 1A-B). Estes achados são consistentes com o esperado, dado o papel do colágeno na manutenção da estrutura da pele e sua tendência a sofrer degradação e reorientação com o passar do tempo.



**Figura 1** – Espectros obtidos por PAS da epiderme (A) e derme (B). Espectros obtidos por FTIR-ATR da epiderme (C) e derme (D). Espectro de carga do PC1 (E). PCA para a epiderme e derme dos diferentes grupos (F), epiderme dos grupos 10 e 100 kg (G) e derme dos grupos 10 e 100 kg (H).

Além disso, as análises por FTIR-ATR destacaram diferenças espectrais entre os diferentes grupos etários, sugerindo alterações físico-químicas tanto na epiderme quanto na derme (Figura 1C-D). A aplicação da Análise de Componentes Principais (PCA) foi essencial para identificar as principais variáveis responsáveis por essas mudanças, com ênfase nas bandas atribuídas às vibrações de  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ , amida I e II, que são indicativas das proteínas presentes na pele (Figura 1E-H).

Esses resultados corroboram estudos anteriores que indicam que, à medida que a pele envelhece, ocorre um rearranjo das fibras de colágeno, levando a uma diminuição da elasticidade e ao aparecimento de características típicas do envelhecimento, como rugas e perda de firmeza. A observação de uma tendência de separação nos espectros de epiderme e derme em função da idade reforça a ideia de que o envelhecimento cutâneo envolve a degradação do colágeno, e a reorganização estrutural das proteínas na matriz extracelular (Greve *et al.*, 2008) (Mitreveli *et al.*, 2010).

Portanto, o presente estudo confirma a eficácia das técnicas PAS e FTIR-ATR na detecção de mudanças moleculares associadas ao envelhecimento cutâneo. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de intervenções tópicas mais eficazes, que considerem as variações estruturais e moleculares da pele em diferentes idades.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as técnicas de PAS e FTIR-ATR são eficazes para identificar mudanças moleculares na pele da orelha de porco causadas pelo envelhecimento. As análises indicaram que, com o avanço da idade, ocorrem alterações no colágeno da pele, o que pode estar relacionado aos rearranjos e reorientações das fibras, bem como ao achatamento da junção dermoepidérmica. Esses achados corroboram a literatura existente e oferecem novas perspectivas para o desenvolvimento de produtos tópicos mais eficazes, considerando a influência da idade nas propriedades da pele.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à UEM, à Fazenda Experimental da UEM pela doação das amostras utilizadas no desenvolvimento desta pesquisa, e ao Centro de Estudos Avançados em Ciência/Tecnologia Biofototérmica e de Vidro Óptico pelo uso dos equipamentos para as análises.

## REFERÊNCIAS

AMES, F. L. et al. Evidence of anti-inflammatory effect and percutaneous penetration of a topically applied fish oil preparation: a photoacoustic spectroscopy study. *J Biomed Opt.*, v. 22, n. 5, p. 055003-055003, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.5.055003>. Acesso em: 20 ago. 2024.

GREVE, T. M. et al. ATR-FTIR, FT-NIR and near-FT-Raman spectroscopic studies of molecular composition in human skin in vivo and pig ear skin in vitro. *Spectroscopy*, v. 22, n. 6, p. 437-457, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.3233/SPE-2008-0365>. Acesso em: 20 ago. 2024.

METREVELI, N. O. et al. UV-vis and FT-IR spectra of ultraviolet irradiated collagen in the presence of antioxidant ascorbic acid. *Ecotoxicol Environ Saf.*, v. 73, n. 3, p. 448-455, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.12.005>. Acesso em: 20 ago. 2024.

NGUYEN, T. et al. Changes of skin collagen orientation associated with chronological aging as probed by polarized-FTIR micro-imaging. *Analyst*, v. 139, n. 10, p. 2482-2488, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C3AN00353A>. Acesso em: 20 ago. 2024.