

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE BIOLOGIA CELULAR

Wbyster Júnio Paiva Lopes

**EFEITOS DOS PIGMENTOS EXÓGENOS UTILIZADOS NA PIGMENTAÇÃO CUTÂNEA E SUA
INTERAÇÃO NA PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS**

Juiz de Fora

2021

WBYSTER JÚNIO PAIVA LOPES

EFEITOS DOS PIGMENTOS EXÓGENOS UTILIZADOS NA PIGMENTAÇÃO CUTÂNEA E SUA INTERAÇÃO NA PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Dissertação de Mestrado do curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área: Imunologia e Doenças Infecto Parasitárias, para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas: Área: Imunologia e Doenças Infecto Parasitárias.

Orientador: Prof^a. Dr^a Heloísa D'Avila da Silva Bizarro

Juiz de Fora

2021

Wbyster Júnio Paiva Lopes

"Efeitos dos pigmentos exógenos utilizados na pigmentação cutânea e sua interação na produção de mediadores inflamatórios"

**Dissertação
apresentada ao
Curso de Pós
Graduação em
Ciências Biológicas -
Imunologia e
DIP/Genética e
Biotecnologia da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito parcial
à obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área
de
concentração: Imunologiae
DIP/Genética**

Aprovada em 30 de novembro de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Orientador

**Professora Doutora Heloísa D'Avila da Silva Bizarro
Universidade Federal de Juiz de Fora**

**Professora Doutora Flávia de Paoli
Universidade Federal de Juiz de Fora**

**Professora Doutora Patricia Pacheco da Silva
Universidade Estácio de Sá**

Juiz de Fora, 09/11/2021.



Documento assinado eletronicamente por Heloisa D Avila da Silva Bizarro, Professor(a), em 30/11/2021, às 21:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Patricia Pacheco da Silva, Usuário Externo, em 01/12/2021, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Flavia de Paoli, Professor(a), em 01/12/2021, às 14:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 0568918 e o código CRC 32606AFE.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, á Deus, por ter me dado perseverança e força para terminar mais essa etapa da minha vida.

A Dra Heloísa D'Ávila por ter acreditado em mim desde as primeiras reuniões, por possibilitar o meu crescimento desde a escolha de um tema inédito e pela orientação durante o desenvolvimento desse trabalho.

À minha colaboradora e amiga Dra Patricia Pacheco que apesar da distância sempre se faz presente quando eu precisei. Obrigada pela amizade, pela orientação, pelas conversas e por tanta conexão.

À todos do laboratório de Biologia Celular, em especial a Adriana, a Laíris, a Giuliana, o Luíz, a todos os IC's que de uma forma ou de outra contribuíram para a minha formação durante esse período.

Às grandes amigas Andrea Martins, Márcia Matins e Magda Martins e todo grupo MAG Estética por ter acreditado no nosso projeto e apoiado o desenvolvimento científico da nossa profissão.

À amiga Rhaisa pelo carinho, preocupação e por sempre me ajudar a resolver qualquer problema.

As secretárias do departamento e da pós-graduação Fernanda e Graça pela ajuda sempre que necessário.

Aos órgãos de apoio científico CNPq, FAPEMIG, UFJF.

À minha mãe pois é ela que me ajuda a ver o copo meio cheio quando às vezes parece estar é meio vazio (rs). Obrigada por existir na minha vida e ser a primeira a acreditar no meu potencial.

Ao Keven, meu amor, meu companheiro de realizações e aventuras. Obrigada por me compreender e estar comigo nessa viagem maluca que se chama vida.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

A dermopigmentação é uma técnica que originou-se da tatuagem, sendo esta, uma arte milenar muito utilizada pelos povos orientais para pigmentação cutânea, a partir de pigmentos exógenos de diversas cores. Vem evoluindo de forma satisfatória nas últimas décadas, sendo utilizada tanto para fins estéticos, nas regiões das sobrancelhas, olhos e lábios, por exemplo, quanto para reparação de vitiligo, estrias, aréolas e cicatrizes. Em consequência do aumento da utilização dessas tintas para pigmentação cutânea, se intensificam as preocupações em relação ao potencial inflamatório desses elementos no corpo humano, surgindo a necessidade de conhecer seu comportamento e seus riscos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos dos pigmentos exógenos utilizados na pigmentação cutânea e sua interação na produção de mediadores lipídicos. Para isso, foram realizados ensaios para análise da dose/efeito nas concentrações de 1:100, 1:1000 e 1:10000 em macrófagos peritoneais de camundongos C57bl6, estimulados *in vitro* com o pigmento inorgânico. Verificou-se a viabilidade celular após 24 horas de exposição dos macrófagos ao pigmento e observamos a formação de corpúsculos lipídicos e a síntese de mediadores inflamatórios nos tempos de 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Os dados da avaliação de viabilidade foram submetidos à análise estatística por ANOVA e as médias comparadas por teste Tukey, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Os dados obtidos mostraram que o pigmento inorgânico utilizado não é citotóxico para macrófagos peritoneais murinos, onde as 3 doses utilizadas apresentaram viabilidade celular acima de 95%. A observação em microscopia de luz de macrófagos peritoneais murinos corados com ORO e Bodipy mostrou a formação de corpúsculos lipídicos nas 3 doses utilizadas, com maior formação na dose de 1:1000. Na análise da morfologia das células com kit panótico observamos que os macrófagos mantiveram sua forma típica e seu núcleo definido após a exposição ao pigmento. Observamos também baixa expressão de citocinas como TNF- α e IL-10. Os dados demonstraram que, o pigmento não apresenta efeito tóxico nas doses utilizadas *in vitro*, e apresenta um baixo efeito indutor de inflamação, visto que apesar da detecção da formação de corpúsculos lipídicos, a expressão de citocinas pró inflamatórias foi bastante reduzida.

Palavras-chave: Mediadores Lipídicos Inflamatórios, Corpúsculos Lipídicos, Micropigmentação, Pigmentos exógenos, Tattoo.

ABSTRACT

Dermopigmentation is a technique that originated from tattooing, which is an ancient art widely used by oriental peoples for skin pigmentation from exogenous pigments of different colors, which has been evolving satisfactorily in recent decades, being used for both purposes aesthetics such as in the areas of the eyebrows, eyes and lips, as for repairing vitiligo, stretch marks, areolas and scars. As a result of the increased use of these paints for skin pigmentation, concerns about the inflammatory potential of these materials in the human body are intensifying, resulting in the need to know their behavior and risks. Thus, the aim of this work is to evaluate the effects of exogenous pigments used in skin pigmentation and their interaction in the production of lipid mediators. For this, assays were carried out to analyze the dose/effect at concentrations of 1:100, 1:1000 and 1:10000 in peritoneal macrophages from C57bl6 mice, stimulated in vitro with the pigment. Cell viability was verified after 24 hours of exposure of macrophages to the pigment and we observed the formation of lipid bodies and synthesis of inflammatory mediators at 2h, 4h, 6h, 8h and 24h times. The viability assessment data were submitted to statistical analysis by ANOVA and the means compared by Tukey test, values of $p < 0.05$ were considered significant. The data obtained showed that the pigment is not cytotoxic to murine peritoneal macrophages, where the 3 doses used showed viability above 95%. Light microscopy observation of macrophages stained with oil red O (ORO) and Bodipy showed formation of lipid bodies in the 3 doses used, with greater formation in the dose of 1:1000. In analyzing the morphology of cells with the panoptic kit, we observed that the macrophages kept their circular shape and their nucleus defined after exposure to the pigment. We also observed low expression of cytokines such as TNF- α and IL-10. The data demonstrate that the pigment does not have a toxic effect at the doses used in vitro, nor does it have a potential inflammation-inducing effect, since despite the detection of the formation of lipid bodies, the expression of pro-inflammatory cytokines was quite reduced.

Keywords: Inflammatory Lipid Mediators, Lipid Bodies, Micropigmentation, Exogenous Pigments, Tattoo.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Interação de macrófagos peritoneais estimulados com pigmento inorgânico em concentração de 1:100 (A), 1:1000 (B), 1:10000 (C), controle (D). Barra: 20µm.....38
- Figura 2** – Morfologia de macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000 e corados em kit de panótico rápido após 2, 4, 6, 8, e 24h de estimulação. Macrófagos peritoneais murinos *in vitro* observados em microscópio óptico em objetiva de 100x. Controle (A), 2h (B), 4h (C), 6h (D) 8h (E) e 24h (F). Barra: 20µm.....41
- Figura 3** – Formação de corpúsculos lipídicos em macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000 e corados em ORO após 2, 4, 8, e 24h de estimulação. Macrófagos observados em microscópio de fluorescência em objetiva de 100x. Núcleo corado com DAPI. Controle (A), 2h (B), 4h (C), 8h (D) e 24h (E). Barra: 20µm.....42
- Figura 4** – Formação de corpúsculos lipídicos em macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000 e corados em Bodipy após 2, 4, 6, 8, e 24h de estimulação. Macrófagos observados em microscópio de fluorescência em objetiva de 100x. Controle (A), 2h (B), 4h (C), 6h (D) 8h (E) e 24h (F). Barra: 20µm.....44
- Figura 5** – Gráfico de contagem da formação de corpúsculos lipídicos em macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000. Controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Médias seguidas de letra semelhantes não diferem significativamente entre si. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$).....45
- Figura 6** – Gráfico de dosagem da expressão de TNF- α em pg/ml. Controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$).....47
- Figura 7** – Gráfico de dosagem da expressão de IL-10 em pg/ml. Controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$).....47

Figura 8 – Gráfico de dosagem da expressão de TGF – β^1 em pg/ml. Controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$).....48

Figura 9 – Gráfico de dosagem da expressão de PGE₂ em pg/ml. Controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$).....49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais características de pigmentos orgânicos e inorgânicos.....22

Tabela 2 – Diluição do pigmento em PBS estéril para identificação da melhor dose/efeito.....37

Tabela 3 - Avaliação da Viabilidade celular.....38

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

AA – Ácido Araquidônico

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

C.V – Concentração/ Volume

CBR – Centro de Biologia da Reprodução

Cd – Cádmió

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CI – Color Index

CL – Corpúsculo lipídico

cm – Centímetros

Co – Cobalto

CO₂ – Gás Carbônico

CoA – Coenzima do tipo A

Com – Comércio

Cox – Ciclooxygenase

cPLA₂ – Citosólica Fosfolipase A₂

Cr – Cromo

DAG – Diacilglicerol

DAPI – 4'-6 – diamidino-2-fenilindol

EC – Éster de colesterol

EGF – Fator de Crescimento Epidérmico

ELISA – *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*

Fe – Ferro

FeO – óxido de ferro

g – grama

h – hora

IFN- γ – Interferon γ

IL-1 – Interleucina 1

Ind – Indústria

kg – Quilogramas

Lo – Lipoxigenase

LT - Leucotrieno

m² – Metros quadrado

ME – Micro Empresa

MG – Minas Gerais

min – minuto

mm – Milímetros

Mo – Molibdênio

Ni – Níquel

nm – nanômetro

NO – Óxido Nítrico

°C – grau Celsius

OMS – Organização Mundial de Saúde

ORO – *Oi IRed'O*

PAF – Fator de Agregação Plaquetária

PBS – Tampão fosfato-salino

PDGF – Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PGD₂ – Prostaglandina D₂

PGE₂ – Prostaglandina E₂

PGF₂ – Prostaglandina F₂

PGH₂ – Prostaglandina H₂

PLA₂ – Fosfolipases A₂

RE – Retículo Endoplasmático

RPM – Rotações por Minuto

RPMI – Meio de Cultura

SFB – Soro Fetal Bovino

sPLA₂ – Segregada Fosfolipase A₂

TAG – Triacilglicerol

TGF-β – Fator Transformador do Crescimento Beta

Th1 – T helper 1

Ti – Titânio

TiO₂ – Dióxido de Titânio

TNF-α – Fator de Necrose Tumoral α

UFJF – Universidade Federal de Juiz de Fora

X – número de vezes

ZnO – Óxido de Zinco

ZnS – Sulfeto de Zinco

µg – micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. HISTÓRIA DA PIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EXÓGENA.....	17
2.2. EQUIPAMENTOS.....	18
2.3. TINTAS.....	19
2.4. PIGMENTOS.....	20
2.5. PELE X TOXICIDADE À TATUAGEM.....	24
2.6. MICROPIGMENTAÇÃO X RESPOSTA INFLAMATÓRIA.....	27
2.6.1. MEDIADORES LIPÍDICOS DA INFLAMAÇÃO.....	29
2.7. CORPÚSCULOS LIPÍDICOS.....	30
3. OBJETIVOS	33
3.1. GERAL	33
3.2. ESPECÍFICOS	33
4. METODOLOGIA	34
4.1. ANIMAIS	34
4.2. OBTENÇÃO DO PIGMENTO INORGÂNICO	34
4.3. EXPERIMENTO <i>IN VITRO</i> – EXPOSIÇÃO DE MØ PERITONEAIS.....	34
4.4. COLORAÇÃO E CONTAGEM DE CORPÚSCULOS LIPÍDICOS.....	35
4.5. DOSAGEM DE CITOCINAS.....	35
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1. DETERMINAÇÃO DA DOSE/EFEITO.....	37
5.2. AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE E VIABILIDADE CELULAR.....	38

5.3. ANÁLISE MORFOLOGICA DAS CELULAS.....	40
5.4. FORMAÇÃO DE CORPÚCULOS LÍPIDICOS.....	41
5.5. CONTAGEM DE CORPÚCULOS LÍPIDICOS.....	45
5.6. DOSAGEM DE CITOCINAS TNF- α , TGF β ¹ , PGE2 E IL-10.....	46
6. CONCLUSÃO.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1. INTRODUÇÃO

A dermopigmentação é uma técnica que originou-se da tatuagem, sendo esta, uma arte milenar muito utilizada pelos povos orientais para pigmentação cutânea. A utilização de pigmentos exógenos, de diversas cores, vem evoluindo de forma satisfatória nas últimas décadas, tanto para fins estéticos, como por exemplo, nas regiões das sobrancelhas, olhos e lábios, quanto para reparação de vitiligo, estrias, aréolas e cicatrizes (MARTINS *et al.*, 2009).

Os primeiros relatos que se têm sobre a pigmentação cutânea foram a partir das viagens marítimas que Marco Polo fez a Ásia no século XVII sobre o colorido da tatuagem no continente asiático. Nessa época era comum que as pessoas cobrissem o corpo com desenhos de leões, dragões, pássaros e outras figuras (MARTINS & BEHLING, 2012).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a tatuagem é definida como a “pigmentação artificial da pele – pigmentação exógena introduzida fisicamente dérmica ou subepidérmica da pele, com resultados permanentes, objetivando embelezamento ou correção estética” (BRASIL, 2009 apud CALDERAN, 2017, p. 43).

Para GIARETTA (2015), inicialmente, o nome utilizado para essa técnica de pigmentação cutânea era maquiagem definitiva. Entretanto, a técnica passou por uma modificação significativa em termos de desenvolvimento de novas técnicas, configurações de agulhas, aparelhos e até mesmo da composição das tintas, e hoje é mais conhecida por Micropigmentação. Atualmente são utilizados pigmentos especiais para essa finalidade, e que foram desenvolvidas para esse fim, diferenciando assim da tatuagem; por ser uma técnica menos invasiva, semipermanente e com pigmentos mais fluídos, de carga pigmentária relativamente mais baixa, se comparado com os pigmentos de tatuagem. A Micropigmentação é feita na parte mais superficial da pele, atingindo, preferencialmente, a camada papilar da derme, região próxima a epiderme (camada que sofre constante renovação celular) e que por isso pode contribuir para o desbotamento gradativo da cor (DUARTE & CALHEIROS, 2011).

Devido a nossa pele ser uma estrutura extremamente irregular e tomando por base a junção derme epidérmica, é muito difícil precisar que a tinta/pigmento estará de fato na derme papilar. Entretanto, para um efeito semipermanente, o atingimento de camadas mais superficiais é extremamente importante para garantia de um trabalho mais suave e delicado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRIA DA PIGMENTAÇÃO CUTÂNEA EXÓGENA

As pinturas corporais sempre estiveram presentes na história da humanidade. Segundo ARAUJO (2005), há relatos de tribos antigas que pintavam o corpo com tintas extraídas de plantas em rituais religiosos, sendo este, um dos motivos pelos quais levou o homem a desenvolver a arte da pigmentação cutânea. O estranhamento vivido ao se ver nu e sem pelos, diante da beleza dos outros animais fez com que o homem criasse tantas possibilidades de desenhos diferente para pintar o corpo, como por exemplo: listras, círculos e pintas.

“...temendo que o desenho virasse um borrão o homem descobriu uma técnica mais ousada: com uma espinha de peixe bem pontuda inseriu a tinta por debaixo da pele. Sentiu uma dor profunda. O efeito, porém, haveria de durar para sempre.” (ARAUJO, 2005)

Da espinha de peixe até as máquinas mais modernas que vemos hoje, o objetivo sempre foi pigmentar a pele e deixar um resultado claro e vivaz. Várias formas e técnicas foram desenvolvidas, a fim de encontrar melhores formas de proporcionar um resultado cada vez melhor, seguro e eficaz (ARAUJO, 2005).

AZEVEDO (2018) nos mostra que a pigmentação corporal sempre teve um sentido muito forte para muitos povos e por isso alguns deles utilizavam dessa técnica como rito de passagem, desde os instrumentos até o tipo de desenho. Em pensar que por muito tempo guerreiros do sudeste asiático cobriam-se com tatuagem por acreditar que isso lhes daria forças sobrenaturais e seus corpos seriam impenetráveis pelos ataques dos inimigos.

Por outro lado, os motivos que levam homens e mulheres ocidentais a buscar a pintura do corpo, são puramente estéticas, desvinculadas de qualquer valor simbólico social (MACCHIAVELLI, 2001).

2.2 EQUIPAMENTOS

A primeira máquina de tatuagem foi criada em 1891 pelo tatuador Samuel O'Reilly, inspirada em uma caneta elétrica de autografia que gravava superfícies duras criada por Thomas Edison. A caneta foi adaptada por O'Reilly, o qual fez uma máquina que oscilasse através do eletromagnetismo, permitindo a movimentação das agulhas, trazendo avanços na técnica de tatuar, abandonando as ferramentas utilizadas tradicionalmente, no Ocidente. Um pouco mais tarde, Carol Nightingale em 1979, fez algumas modificações na máquina, acrescentando peças. As máquinas ficaram mais potentes aproximando-se do formato das que vemos hoje em dia. Mesmo sendo tão melhor, as tatuagens não podiam possuir muitos detalhes, pois as agulhas eram muito grossas e existiam poucas tonalidades de tintas. Hoje em dia, os equipamentos utilizados para se realizar a dermopigmentação cutânea não sofreram grandes mudanças se comparado com as primeiras máquinas de tatuagem. Encontramos no mercado as máquinas rotativas, os demógrafos e o indutor manual (também conhecido como tebori), que são equipamentos que vão variar de acordo com a estética, a potência, velocidade, modo de trabalho e a configuração das agulhas (AZEVEDO, 2018).

Outra diferença muito bem observada por GIARETTA (2015), é que nas máquinas de Micropigmentação, a rotação do motor é menor do que na máquina de tatuagem, permitindo maior precisão e controle do equipamento, possibilitando desenhar estruturas mais delicadas, como sobrancelhas e efetuar correções de procedimentos. Segundo a mesma autora, a regulagem da agulha faz toda diferença no resultado final. Para o procedimento de Micropigmentação deve-se utilizar 2 mm no máximo dentro da pele. Já na tatuagem, é um pouco maior, podendo chegar até 3 mm aproximadamente de profundidade de agulha.

2.3 TINTAS

Graças aos avanços da indústria química, a dermopigmentação vem evoluindo, significativamente na busca por novos materiais sintéticos e formulações, a fim de encontrar a concentração ideal de cada tinta capaz de reproduz os efeitos naturais desejados.

Para compreendermos melhor a interação desses produtos em nossa pele é preciso compreender sobre a composição química das tintas para tatuagem e das tintas no geral, que são praticamente iguais. As tintas para pigmentação cutânea devem ser livres de metais pesados e terem seus efeitos tóxicos diminuídos (GIARETTA, 2015).

A tinta é uma solução líquida composta basicamente por solvente (água ou outros solventes orgânicos), resina, aditivo e pigmentos que podem ser orgânicos ou inorgânicos, a depender da sua classificação química, de acordo com CALDERAN (2017).

Os solventes são produtos que tem por finalidade a capacidade de dissolver materiais sem alterar suas propriedades químicas. A solubilização é o resultado dessa interação (FAZENDA, 1995).

A suspensão é a principal característica encontrada nas tintas de dermopigmentação. Com tamanho médio de partículas dispersas de aproximadamente 1000 nm, formam grandes aglomerados de moléculas, representando um sistema heterogêneo, sendo possível visualizar suas partículas em um microscópio comum (CALDERAN, 2017).

Segundo FAZENDA (1995), os solventes mais utilizados em tintas são os pertencentes ao grupo dos hidrocarbonetos, devido ao seu menor custo e por isso indicado para compor a maioria das resinas. Já os oxigenados, por apresentarem átomos de "O" na molécula contribuem para o aumento da polaridade.

Um componente muito importante para as tintas, em geral, são as resinas. As resinas são compostas não-voláteis que servem para aglomerar as partículas de pigmentos. Antigamente eram obtidas a partir de compostos naturais e hoje em dia são obtidas através da indústria petroquímica e química. As resinas determinam o tipo de tinta: alquídicas, epoxídicas, acrílicas, amínicas, poliuretânicas e fenólicas. É

importante salientar, que algumas resinas surgiram a partir da necessidade de se melhorar as propriedades físico-químicas dos óleos utilizados em tintas, como por exemplo: as alquídicas, sendo estes óleos o veículo de maior aplicação em tintas. As matérias-primas mais utilizadas na fabricação de resinas são: ésteres glicéridos de ácidos graxos de origem vegetal (FAZENDA, 1995).

Outro componente muito utilizado em tintas são os aditivos, ingrediente que adicionado a tinta, em quantidade pequena (no máximo 5% de sua composição) tem a capacidade de proporcionar melhorias nas estabilidades, manufatura, aplicabilidade, qualidade e aspecto. Existe uma infinidade de aditivos utilizados pela indústria de tintas, entre eles estão: secantes, catalisadores, anti-peles, espessantes, surfactantes, estabilizadores, entre outros (FAZENDA, 1995 apud CALDERAN, 2017).

SARTORI, LOPES e GUARATINI (2010) chamam a atenção para os surfactantes e os tensoativos, que por atuarem na tensão superficial dos líquidos ou dos sólidos, eles reduzem de forma considerável a tensão superficial da água ou a tensão interfacial de dois líquidos não miscíveis.

Nas tintas de dermopigmentação, os aditivos mais utilizados são os tensoativos não-iônicos, pois apresentam maior afinidade com a pele. Estes são mais utilizados em cremes, por apresentarem alta compatibilidade com os olhos e com a pele, se tornando um produto altamente hipoalergênico. Podemos dizer que os tensoativos não-iônicos consistem em uma molécula formada pela presença de uma parte polar ou hidrofílica (solúvel em água) e uma parte apolar ou lipofílica solúvel em óleo. Tais fenômenos ocorrem em maioneses, espumas de extintores de incêndio, emulsões asfálticas, leite, entre outros além de tintas (VIDAL, 2010 apud CALDERAN, 2017).

2.4 PIGMENTOS

O responsável pela cor e mais importante componente da tinta é o pigmento, que no passado era extraído de seres vivos como planta e animais e de minerais como as pedras e rochas. Com vasta variação de origem era possível extrair o pigmento de cor preta da glândula de polvos, do carvão (fuligem) ou até mesmo de pedras como a

sumi-ê– no Japão. A cor vermelha (corante carmim), por exemplo, era extraída de uma espécie de besouro a cochonilha (*Dactylopius coccus*). A partir de partes secas das fêmeas do besouro era extraído cerca de 10% do ácido carmínico que é a substância corante (CARVALHO *et al.*, 2016; VELOSO, 2015; VIDAL, 2010).

Hoje em dia, sabemos que o pigmento é um material sólido finamente dividido, em forma de pó e insolúvel no meio, compostos por componente orgânicos e inorgânicos. Essas substâncias químicas podem fazer parte da fabricação de diversos substratos, proporcionando cor a elementos têxteis ou não, tintas, plásticos, cosméticos, alimentos e outros materiais (CALDERAN, 2017).

Pigmentos e corantes não são sinônimos, por isso vale a pena salientar sua diferença. A diferença básica está no tamanho da partícula e na solubilidade no meio em que é inserido. Os pigmentos possuem partículas maiores e são insolúveis no polímero, enquanto corantes são moléculas solúveis em polímeros (ALLEN *et al.*, 2000).

As principais características que vão diferenciar os pigmentos orgânicos dos inorgânicos são:

Tabela 1 – Principais características de pigmentos orgânicos e inorgânicos.

Características	Pigmentos Orgânicos	Pigmentos Inorgânicos
Composição química	Carbono e hidrogênio, principalmente	Minerais (metais de transição)
Solubilidade	Insolúveis no meio aquoso	solúveis no meio aquoso
Cor	Cor vibrante e transparente	Cor terrosa e opaca
Fotossensibilidade	Sensíveis à luz	Ótima resistência à luz
Resistencia ao laser	Vulneráveis ao laser	Resistentes ao laser
Estabilidade química	Baixa estabilidade	Excelente estabilidade
Estabilidade térmica	Baixa estabilidade	Excelente estabilidade
Tamanho das partículas	Depende da moagem	Depende da moagem
Exemplos	Ftalocianinas, quinacridonas, perilenos, dicetopirróis, pirantronas e outros.	Dióxido de Titânio (TiO ₂), Óxido de Ferro (FeO), cromatos e molibdatos de chumbo e outros.

Fonte: Adaptado de CALDERAN (2017).

Os pigmentos sintéticos utilizados hoje em dia, análogos aos naturais, foram desenvolvidos no passado, por alguns alquimistas e os primeiros químicos. Assim, pigmentos como o azul do Egito eram feitos a partir de areia, carbonato de cálcio e minérios de cobre em tempos tão remotos quanto 3000 anos atrás (SHRIVER e ATKINS, 2008 apud CALDERAN, 2017).

Segundo FAZENDA (1995), os pigmentos inorgânicos são obtidos principalmente, por um complexo de metais de transição, contendo molibdênio (Mo), cádmio (Cd), ferro (Fe), cromo (Cr), cobalto (Co), titânio (Ti) e níquel (Ni).

Os pigmentos inorgânicos produzem cores resultantes da absorção de energia e reflexão de luz na faixa de comprimento de onda da região do visível, de 400 nm a 700 nm. Para alterar as características visuais de algumas tintas, são utilizadas um espectro de absorção de energia na região do visível, que resulta numa aparência de

branco, como TiO_2 , Óxido de Zinco (ZnO), Sulfeto de Zinco (ZnS) (sem absorção no visível). O pigmento mais importante hoje na indústria de tintas e pigmentos para tatuagem é o preto, uma cor de pigmento obtida pela combustão parcial ou pirólise de hidrocarbonetos, normalmente gás ou óleo (SHRIVER e ATKINS, 2008).

Já os pigmentos orgânicos são substâncias orgânicas que conferem cor às tintas, insolúveis no meio aquoso, apresentam-se na forma de pequenos cristais e não apresentam ação anticorrosivas. Para que o composto orgânico apresente cor, todos os pigmentos orgânicos possuem na sua estrutura química, um grupo de cromóforos responsáveis pela ressonância eletrônica e conseqüentemente, a revelação da cor (FAZENDA, 1995)

Devido as suas cores vibrantes e sua alta durabilidade na pele os pigmentos orgânicos são muito utilizados para tintas de Micropigmentação. São transformados em suspensões líquidas para facilitar o implante no tecido e misturados com espessantes, emolientes, dispersantes e às vezes, álcool como agente conservante (GIARETTA, 2015).

Ainda, segundo GIARETTA (2015), diferente do que muitas pessoas pensam, os pigmentos orgânicos e inorgânicos utilizados em Micropigmentação, hoje em dia, seguem sendo produzidos sinteticamente, finamente moídos e transformados em pós. Para garantir um baixo índice de toxicidade ao usuário, as empresas que fabricam o pigmento devem levar em conta vários critérios que estão associados ao uso de solventes específicos, o tamanho adequado das partículas do pigmento e ao fator luz. A ANVISA é o órgão responsável pela regulamentação da fabricação e comercialização no Brasil.

Esses critérios além de relevantes são muito importantes, pois tintas solúveis em água têm grande solubilidade também em sangue podendo alcançar qualquer parte do corpo. Já as tintas solúveis em óleo têm grande potencial de se mover e acumular em tecidos gordurosos, como por exemplo o tecido adiposo em humanos. As tintas de tatuagem e Micropigmentação devem usar pigmentos estáveis que evitem sua decomposição. Existem relatos na literatura que algumas tintas perderam a sua cor, quando expostas à radiação solar (STUCKEY e EILKS, 2015).

Os pigmentos ao serem aplicados sobre a pele tendem a formar partículas de 0,5 a 10 μm . Estudos mostraram, através de experimentos realizados com a estrutura

química das substâncias presentes nas tintas de tatuagem, que a toxidez e as propriedades alérgicas foram minimizadas, quando associadas a técnica de redução do tamanho das partículas dos pigmentos em 0,5 e 1µm, durante a fabricação da tinta (VISCIGLIA, 2014).

O *Colour Index (CI)* é uma coleção de livro publicado pela “*The Society of Dyers and Colourists*” e pela “*American Association of Textile Chemists and Colorists*”, utilizados para uniformizar o nome dos pigmentos e tornar mais simples sua identificação. O CI é como um banco de dados referencial para os fabricantes de produtos coloridos e facilita para os consumidores, que poderão encontrar a cor desejada na embalagem dos produtos (FAZENDA, 1995).

Além de toda parte química das tintas de Micropigmentação, outros componentes podem ser estudados, como por exemplo: a parte biológica, com estudos relacionados à composição imunohistoquímica da pele e à relação de toxicidade, que alguns compostos podem oferecer quando aplicados sobre a pele. Poucos estudos relacionados a essa interação pele/pigmento existem publicados hoje na literatura científica e pela grande expansão que tivemos no mercado de atuação destes profissionais com técnica de Micropigmentação, se faz necessário o empenho da comunidade científica em desvendar as possíveis interações existentes entre esses dois elementos.

2.5 PELE E TOXICIDADE À TATUAGEM

Como já sabemos, a pele é conhecida como o maior órgão do corpo humano. Constitui-se de uma complexa estrutura de tecidos vivos, de várias naturezas, inter-relacionados, de modo a desempenhar de maneira harmônica todas suas funções. Recobre uma superfície de cerca de 1,5 a 2,0m², podendo pesar de 3 a 4kg, participando de um sistema chamado “sistema tegumentar” (BECHELLI e CURBAN, 1963).

Por ser facilmente acessível, a pele é utilizada no diagnóstico diferencial de quase todas as doenças, sendo um dos melhores indicadores de saúde geral de um indivíduo (SWARTZ, 2001).

A pele apresenta importantes funções como: efeito barreira (impedindo a entrada e a saída de substâncias e patógenos), contenção de estruturas do corpo (tecidos e órgãos) e de substâncias vitais (líquidos extracelulares), regulação do calor, sensibilidade e síntese de vitamina D (MOORE e DALLEY, 2007).

MOORE e DALLEY (2007) dividem a pele em *epiderme*, uma camada celular mais superficial, composta por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado; a *derme*, uma camada de tecido conjuntivo profundo e por seus anexos (folículos pilosebáceo, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas). A primeira camada da pele para estes autores é considerada como semipermeável, uma vez que substâncias de baixo peso molecular podem atravessá-la, como por exemplo: corantes (pigmentos), compostos cosméticos e farmacêuticos.

A derme, camada da pele situada inferiormente a epiderme, é composta por tecido conjuntivo conectivo frouxo e denso não modelado e apresenta numerosas terminações nervosas e abundantes vasos sanguíneos. É nessa camada que estão situados a raiz dos pelos, as glândulas sudoríparas e sebáceas, bem como, os diferentes tipos de células: fibroblastos, macrófagos e mastócitos, que fazem parte da homeostasia local. Os pigmentos são depositados exatamente na camada dérmica, daí a importância de conhecer alguns detalhes desse processo, bem como a principal substância química que dá cor natural a nossa pele, a melanina (VIGUÉ e MARTÍN, 2007).

O sistema tegumentar possui uma série de aminoácidos (cistina, prolina, tirosina, valina), proteínas (elastina, colágeno, melanina, queratina), lipídios (ácidos graxos, colesterol, fosfolipídios, ceramidas), azotados (ácidos nucleicos, glicoproteínas, ácido Hialurônico, ureia), glicídios (glicose e glicogênio) e sais minerais (sódio, potássio, zinco, ferro, magnésio), capazes de atuarem sinergicamente, garantindo o equilíbrio e as funções naturais desse sistema.

A pele é pigmentada naturalmente por um polímero natural sintetizado na epiderme, a melanina. A melanina é produzida por uma célula especializada chamada melanócito e a quantidade desse polímero é que qualifica a cor da pele de cada indivíduo. Sendo assim, quanto maior a quantidade de melanina, mais escura será o tom de pele e vice-versa. A produção de melanina feita pelos melanócitos acontece pela bio-oxidação progressiva da tirosina (CUNHA *et al.*, 2004; FOGAÇA, 2021).

A melanina exerce função protetora contra a radiação ultravioleta emitida pelo Sol que é nociva aos tecidos vivos. E por isso a melanina encontra-se presente em diversas estruturas do nosso corpo, como por exemplo: nos olhos, pele, cabelo e pelos. A cor da pele não depende apenas da presença da melanina, mas também de outras substâncias como, por exemplo, o caroteno presente no tecido adiposo subcutâneo que tem a cor alaranjada. Os vasos sanguíneos são também estruturas que influenciam na cor da pele, pois quando dilatados a pele fica mais escura. Um exemplo disso são as olheiras (GIARETTA, 2015).

Além de dominar as técnicas, fazer bons desenhos, possuir bons equipamentos e conhecer a teoria das cores, um bom profissional de Micropigmentação deve conhecer todo o processo de reparação tecidual, que acontece uma forma organizada para promover a recuperação do tecido lesionado. O corpo realiza uma série de atividades bioquímicas sequenciais e ordenadas, para que o tecido recupere sua integridade. Durante a implantação de pigmento na Micropigmentação, os pigmentos ao serem introduzidos na derme geram uma inflamação local, que pode ser acompanhado ou não, de um pequeno sangramento (GIARETTA, 2015).

O processo de cicatrização está dividido em três fases: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelagem ou maturação. A fase inflamatória acontece logo após a perfuração da agulha sob a pele, iniciando-se uma vasoconstrição para diminuição do sangramento local, com conseqüente diminuição do líquido circulante, pois a rede linfática também é afetada. A noradrenalina é uma substância precursora importantíssima para promover essa vasoconstrição protetora. O NO é uma molécula produzida por diversos tipo celulares, dentre elas os macrófagos, desempenhando muitas funções dentre as quais na resposta imunológica destacamos sua habilidade microbicida e vasodilatadora. Um radical livre com capacidade citotóxica contra microorganismos e células tumorais no geral. (ZIMMERMANN, 2017).

A partir desse momento começa a agregação plaquetária e de leucócitos na parede interna dos vasos lesionados, estimulando assim a coagulação, para obstruir o escape de sangue e formar o coágulo local, composto por colágeno, plaquetas e as trombinas. Na sequência desse processo ocorre uma vasodilatação compensatória no sentido de permitir a passagem de fluídos e células de defesa para o tecido lesionado e toda a sinalização química servirá de amparo para o processo de quimiotaxia. Os neutrófilos (polimorfonucleares), células que compreendem parte do

nosso sistema imune são as primeiras células a chegar à região, aderindo-se a parede dos vasos e liberando radicais livres com o objetivo de atacar bactérias invasoras. Aos poucos essas células vão sendo substituídas por macrófagos. A partir daí na fase de maturação a produção de colágeno e matriz extracelular é organizada recuperando assim as características iniciais do tecido lesionado (FERREIRA e DASSUNPÇÃO, 2006).

Já quando o pigmento é implantado na pele, células especializadas do sistema imunológico, como os macrófagos, por exemplo, o reconhecem como um corpo estranho e tentam fagocitá-lo ou quebrá-lo em partículas menores, de modo que possam ser removidos pelo sistema linfático. Geralmente, o tamanho das partículas de pigmentos tende a ser grande e não tão fáceis de quebrar. Dessa maneira, os pigmentos são isolados com ajuda de filamentos, chamados fibrilas, por células do sistema imunológico, de forma a evitar que o pigmento se mova, ou seja, encapsulando e fixando-o no local (GIARETTA, 2015).

Existem alguns fatores que podem contribuir para a fixação e estabilidade do pigmento dentro da pele, dentre eles estão a profundidade, o volume de pigmento, a máquina que será utilizada para confecção do trabalho e a escolha do pigmento adequado. De um modo geral, pigmentos orgânicos são mais biocompatíveis – o organismo encapsula e os pigmentos inorgânicos não são biocompatíveis – submetem-se mais vezes a tentativa de expulsão (CALDERAN, 2017).

2.6 MICROPIGMENTAÇÃO E RESPOSTA INFLAMATÓRIA

O processo de Micropigmentação induz uma inflamação que se resolve espontaneamente, com total regeneração epidérmica dentro de duas semanas, podendo, em alguns casos, prolongar este tempo. Embora complicações inflamatórias resultantes de Micropigmentação sejam raras, estudos mostram que a sua incidência está a aumentar (GIARETTA, 2015). A presença de sinais cardinais inflamatórios como: edema, dor, calor e rubor local após os procedimentos, são respostas imediatas do sistema imunológico, atuando de forma efetiva no controle e alívio dos danos teciduais provocados pela ação mecânica das agulhas e indução do pigmento exógeno na pele (ZIMMERMANN, 2017).

As lesões da pele são eventos que podem contribuir para o desequilíbrio da fisiologia da pele, em especial a Micropigmentação que afeta a camada dérmica. O processo de cicatrização que tem por finalidade a cura de feridas que ocorre em três fases didaticamente divididas, como fase inflamatória, proliferativa e de remodelação (BROUGHTON et al, 2006).

Durante a primeira fase em resposta a agentes inflamatórios ocorrem a hemostasia, migração de leucócitos e início da cascata de reparação tecidual com diminuição do fluxo sanguíneo pela contração dos vasos. Com extravasamento de sangue dos vasos lesionados, plaquetas são ativadas pela matriz extracelular que envolve o epitélio, iniciando a adesão e agregação celular. O fibrinogênio sérico é clivado pela trombina resultante das vias de coagulação, formando monômeros de fibrina que se polimerizam pela ação do fator XII, formando, junto as plaquetas, um tampão hemostático que impedem a perda de sangue (KIERSZENBAUM *et al.*, 2004).

Um arcabouço de fibrina, necessário para a migração das células que chegarão e os primeiros fatores de crescimento com atividade surgirão em todo esse processo para contribuir com a continuação da fisiologia do reparo tecidual. Os fatores de crescimento são polipeptídios secretados na ferida que podem ter como função estimular ou inibir a síntese de determinadas proteínas, além de ativar a migração de células, dentre as quais destacamos a fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator transformador do crescimento beta (TGF- β), que terão como função nesse primeiro momento atrair neutrófilos e monócitos para a lesão e o fator de crescimento epidérmico (EGF) que será mais ativo na fase proliferativa (BARRIENTOS *et al.*, 2008).

A migração dos neutrófilos dos vasos sanguíneos para a ferida será mediada pela ligação de selectinas superexpressas de endotélio ativado. Este tecido teve sua fisiologia alterada pela interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), secretados por macrófagos e pelo próprio endotélio, sendo que a primeira citocina também é expressa por queratinócitos que são afetados durante a Micropigmentação. Ao saírem dos vasos sanguíneos em direção ao tecido lesionado, os neutrófilos migrarão em resposta a elementos do sistema complemento (C3a e C5a), da desgranulação de plaquetas, produzida por macrófagos e fibroblastos. Em seguida, monócitos se infiltrarão em resposta a estímulos idênticos ao de neutrófilos, e se diferenciarão em macrófagos sob o estímulo de interferon- γ (IFN- γ), aumentando a

síntese proteica, o tamanho celular, o aparelho de Golgi e o número de lisossomos, microtúbulos e microfilamentos (ZIMMERMANN, 2017).

Os macrófagos juntamente com os neutrófilos, removerão partículas estranhas, como bactérias e o tecido morto do leito da ferida, sendo a ação antimicrobiana dos neutrófilos produzida pela formação de radicais livres de oxigênio e as do macrófago, pelo aumento da síntese de Óxido Nítrico (NO). No processo de inflamação, o NO age na vasodilatação e no aumento da permeabilidade vascular, sendo majoritariamente produzido por enzimas intracelulares presente em todos os tecidos (BROUGHTON *et al.*, 2006; TOWNSEND *et al.*, 2011).

Além de todas essas células e fatores de crescimentos, outros mediadores inflamatórios podem estar presentes nessa fase importante da regeneração tecidual pós Micropigmentação, como por exemplo, os mediadores lipídicos da inflamação, dentre eles, destacamos os eicosanóides, como prostaglandinas (PGs) e leucotrienos (LTs).

2.6.1 MEDIADORES LIPÍDICOS DA INFLAMAÇÃO

Quando pensamos em metabolismo lipídeos, as fosfolipases A₂ (PLA₂) são enzimas que têm importante função em vários processos celulares. Estas enzimas participam da biossíntese de mediadores lipídicos da inflamação, hidrolisando fosfolípidios na posição sn-2 liberando lisofosfolipídeos e ácidos graxos. Um importante ácido graxo liberado no processo inflamatório é o ácido araquidônico (AA), o substrato das ciclooxygenases (COX) ou lipoxigenases (LO), para formação dos eicosanóides (DIAZ e ARM, 2003).

Os lisofosfolipídeos gerados a partir da ação das fosfolipases também podem desencadear respostas celulares inflamatórias. Ademais, fosfolípidios contendo uma ligação éter na posição sn-1e um resíduo de colina ligado ao fosfato, ao serem hidrolisados por PLA₂ formam Liso-PAF. Esse metabólico pode ser acetilado na posição sn-2 formando fator de agregação plaquetária (PAF), um potente mediador lipídico, envolvidos principalmente na inflamação (PRESCOTT *et al.*, 2000).

A hidrólise dos fosfolípidios acontece por intermédio das PLA₂ que pode liberar substratos para a formação de mediadores lipídicos, sendo amplamente aceito que

diferentes isoformas de PLA₂ apresentem um papel importante na ativação do processo Inflamatório. Vários estudos apontam a sPLA₂ (fosfolipase secretada) e cPLA₂ (fosfolipase citosólica) agem em sincronia na geração de eicosanoides em macrófagos, neutrófilos, osteoblastos e fibroblastos (YEDGAR *et al.*, 2006).

O AA liberado pelas PLA₂ não atuam somente como substrato para formação dos eicosanóides, mas exerce efeitos diretos nas funções celulares ao serem liberados. Dentre esses efeitos estão a desgranulação de neutrófilos, secreção de insulina pelas células de Langerhans, inibição da permeabilidade entre células aderentes, aumento da aderência de neutrófilos e da expressão do receptor de integrina, indução de migração de células epiteliais e modulação da proliferação de diversos tipos celulares, incluindo células tumorais (MONJAZEB *et al.*, 2006).

As COXs são enzimas importantes para a conversão de AA em PGH₂, sendo este o precursor dos prostanóides, como PG (PGE₂, PGD₂ e PGF₂), prostaciclina e tromboxanos, que são importantes reguladores dos processos homeostáticos bem como da inflamação. A COX-1 é uma enzima constitutiva, isoforma que sintetiza PG para manutenção do organismo. Já a COX-2 é uma isoforma que induzida por estímulos como citocinas e fatores de crescimento, tem sido associada a doenças inflamatórias (PRESCOTT e FITZPATRICK, 2000).

Após ser metabolizado pela COX, o AA se transforma em PGH₂ um composto extremamente instável, e pode ser convertido rapidamente a PG, prostaciclina, ou a tromboxano pelas enzimas sintases terminais. A PGE₂ é um potente mediador lipídico capaz de modular a motilidade e a sobrevivência das células, aumentando a proliferação celular e induzindo a angiogênese (TSUJII *et al.*, 1998 e SHENG *et al.*, 2001).

2.7 CORPÚSCULOS LIPÍDICOS

Os corpúsculos lipídicos (CL) também chamados de gotas lipídicas ou adipossomos são inclusões citoplasmáticas ricas em lipídeos, sendo a segunda maior reunião de lipídeos associada ao sistema biológico (MURPHY e VANCE, 1999). Os CL são encontrados em diversos tipos celulares como leveduras, plantas, animais,

bem como, em alguns procaríotos e podem permitir a rápida mobilização de lipídeos para várias funções biológicas (MURPHY e VANCE, 1999).

Diferentemente de outras organelas citoplasmáticas, os CL são envoltos por uma única camada de fosfolipídios, centro rico em lipídeos neutros como triacilglicerol (TAG), diacilglicerol (DAG) e éster de colesterol (EC), sendo relativamente heterogêneos em respeito ao tamanho e a composição (MURPHY, 2001).

Inicialmente, os CL foram estudados nos tecidos adiposos e pensava-se que estas organelas eram importantes fontes de energia, em situações de limitado fornecimento de nutriente que eram locais de estoque de ácidos graxos livres, a fim de evitar a formação de lipídios reativos, capazes de promover, eventualmente, a morte celular (KUSMINSKI *et al.*, 2009). Entretanto o aumento dos CL em tamanho e números tem sido bem descritos em diversas patologias infecciosas quanto inflamatórias (D'AVILA *et al.*, 2008).

Alguns modelos têm sido propostos para explicar a biogênese dos CL. A hipótese mais aceita é que são formados a partir do retículo endoplasmático (RE), possuem síntese de TAG e EC pelas enzimas acilCoA-diacilglicerolaciltransferase e acilCoA-colesterol aciltransferase no RE. Os lipídeos se acumulam entre as camadas citosólicas fosfolipídicas da membrana, gerando um brotamento para formar uma organela independente, limitada por uma monocamada de fosfolipídeos e proteínas (MARTIN e PARTON, 2006). Outra proposta de biogênese de CL se refere ao invaginamento da monocamada luminal do RE, onde ela ficaria disposta no interior dos CL, explicando o porquê alguns CL possuírem várias monocamadas de fosfolipídeos no seu interior (ROBENEK *et al.*, 2004).

Não é um simples acúmulo de gordura a biogênese de CL, é um fenômeno altamente regulado por estímulo e em células específicas (BOZZA e BANDEIRA-MELO, 2005). Em células do nosso sistema imune, como os leucócitos, diversos estímulos inflamatórios não lipídicos são capazes de induzir a formação de CL, como produtos derivados de bactérias e citocinas, requerendo a ativação de diferente das vias de sinalização e síntese proteica, dependentes do estímulo e do tipo celular (BOZZA *et al.*, 2007).

Os CL são locais de compartimentalização e de metabolismo de AA. Algumas infecções bacterianas têm sido relacionadas ao aumento de CL e a síntese de

eicosanoides e com localização de enzimas formadoras de eicosanoides nessas organelas (PACHECO *et al.*, 2002, LEITE *et al.*, 2005, PACHECO *et al.*, 2007, D'AVILA *et al.*, 2008).

Vários efeitos imunossupressores têm sido relatados para a PGE₂ em altas concentrações, como a inibição de citocinas de Th (linfócitos T auxiliares, *helper*) do tipo 1, TNF- α e a síntese de NO (RENZ *et al.*, 1988, BETZ e FOX, 1991). A inibição de uma resposta Th1 pode estar relacionada com o aumento da capacidade dos macrófagos em produzir PGE₂ derivadas dos CL, podendo assim, modular negativamente a ativação do macrófago, favorecendo a sobrevivência e a replicação de patógenos no interior do fagócito. Foi observado em microscopia eletrônica de transmissão a proximidade entre CL e fagossomas em animais, demonstrando assim que essas organelas parecem participar da regulação do metabolismo lipídico e do controle da síntese de mediadores inflamatórios (D'AVILA *et al.*, 2006, D'AVILA *et al.*, 2021).

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar os efeitos dos pigmentos exógenos utilizados na pigmentação cutânea e sua interação na produção de mediadores inflamatórios.

3.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a endocitose dos macrófagos peritonéais murinos expostos ao pigmento inorgânico.
- Avaliar, *in vitro*, a viabilidade de macrófagos peritoneais murinos expostos ao pigmento inorgânico.
- Analisar, *in vitro*, a síntese de mediadores lipídicos e citocinas inflamatórias produzidos por macrófagos murinos estimulados com pigmento inorgânico em diferentes tempos.
- Investigar, *in vitro*, a formação de CL após a exposição de macrófagos peritoneais murinos ao pigmento inorgânico em diferentes tempos.

4 METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS

Camundongos C57BL/6, machos, pesando entre 20 a 25g, com idade de de 2 a 6 meses foram obtidos do Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno coberta com maravalha, com livre acesso à água e ração (Nuvilab, Brasil), em temperatura de 22-26°C com ciclos de claro/escuro de 12h. Camundongos machos pesando de 20 a 25g, de 6-8 semanas, foram utilizados no experimento. Todos os protocolos foram aprovados pelo CEUA-UFJF (021/2015 e 018/2018).

4.2 OBTENÇÃO DO PIGMENTO

O pigmento inorgânico Mag Color Gold, fabricado pela Mag Estética Ind e Com. Ltda ME (MG), foi cedido pela Mag Estética, São Paulo. O pigmento estéril foi armazenado em temperatura ambiente e resuspendido em solução fisiológica estéril no momento do uso.

4.3 EXPERIMENTO *IN VITRO* – EXPOSIÇÃO DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS

Macrófagos peritoneais de animais normais foram plaqueados em microplacas de 24 poços. Para análise de CL, foram plaqueadas 1×10^6 células por poço, com lamínulas circulares no fundo. As células ressuspendidas em meio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI)-1640 contendo 2% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de penicilina e estreptomicina foram incubadas a 37°C, em atmosfera com 5% de gás carbônico (CO₂), durante 24h para adesão. Após 24h, as placas foram lavadas com tampão fosfato-salino(PBS) estéril (3x) para retirada das células não aderentes. Em seguida, foi feita a exposição das células ao pigmento inorgânico, previamente ressuspendido em PBS 1x estéril e os macrófagos foram estimulados com o pigmento

na concentração final de 1:100, 1:1000 e 1:1000 por 2h, 4h, 6h, 8h, 24h. Para análise da viabilidade celular, após 24h de estímulo, o sobrenadante foi retirado e adicionou-se o Azul de Tripán e foi realizada a contagem da viabilidade de 100 células por grupo. Macrófagos dos mesmos grupos experimentais foram corados para contagem de CLs, e o sobrenadante foi coletado para análise por Elisa e EIA da produção de citocinas e mediadores lipídicos, respectivamente.

4.4 COLORAÇÃO E CONTAGEM DE CORPÚSCULOS LIPÍDICOS

Para coloração de CL, os macrófagos aderidos nas lamínulas *in vitro* foram fixados em formalina 3,7% por pelo menos 10 min. As lamínulas foram lavadas com propilenoglicol e PBS 1x, e incubadas com Oil Red'O (ORO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 5min, protegidas da luz. Após subsequente lavagem, a lâmina foi montada com meio de montagem contendo 4',6'-diamino-2-fenil-indol (DAPI; Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA), um fluorocromo que se liga ao DNA, usado para visualização dos núcleos. Para determinar a formação de CLs, os mesmos foram contados em 50 células consecutivas/lâmina em microscópio de fluorescência com o software CellSens (Olympus, Tóquio, Japão). Os resultados foram expressos em média \pm EPM. Paralelamente, um grupo lamínulas dos grupos experimentais foram coradas por 1 μ mol de 1-acil - 2- (7 - octil BODIPYTM - 1 - pentanoil) - *sn* - glicerol, por 1 hora a temperatura ambiente, protegidas da luz, para marcação dos CL. Após subsequente lavagem, a lâmina foi montada com meio de montagem para observação em microscópio de fluorescência.

4.5 DOSAGEM DE CITOCINAS

O sobrenadante da cultura de macrófagos estimulados com os pigmentos inorgânicos foram analisados quanto à produção de citocinas TNF- α , TGF β ¹, PGE₂ e IL-10. A detecção foi realizada através de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), utilizando-se anticorpos adquiridos comercialmente, de acordo com as instruções do fabricante (R&D Systems). A leitura foi realizada em leitor de microplaca

(SpectraMax 190; Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA) em comprimento de onda 450nm.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados são apresentados com média \pm EPM. A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o software GraphPad Prism 7.0 e os resultados submetidos a ANOVA e posteriormente ao teste Tukey. Serão consideradas significativas as diferenças com $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DA DOSE/EFEITO

Inicialmente, realizamos experimento *in vitro* para padronizarmos a endocitose do pigmento inorgânico e estimulação de macrófagos. Padronizamos utilizar uma diluição estoque inicial em PBS estéril (1:10) e posteriores diluições, conforme tabela abaixo, a fim de identificar a melhor dose/efeito, como apresentado na tabela 2.

Tabela 2 – Diluição do pigmento em PBS estéril para identificação da melhor dose/efeito.

Controle	1000µl de PBS estéril
1:100	100µl de tinta + 900µl PBS estéril
1:1000	10µl de tinta + 990µl PBS estéril
1:10000	1µl de tinta + 999µl PBS estéril

Após 24 horas de estimulação *in vitro*, observamos em microscópio de luz que as doses de 1:100 e de 1:1000 mostraram-se ideais para visualização da endocitose, sendo possível observar o pigmento dentro dos macrófagos expostos a tinta. A concentração de 1:10000 não mostrou-se eficaz para observar a endocitose dos macrófagos, visto que essa concentração apresentava menor quantidade de pigmento e pouquíssimos macrófagos marcados foram observados (Figura 1).

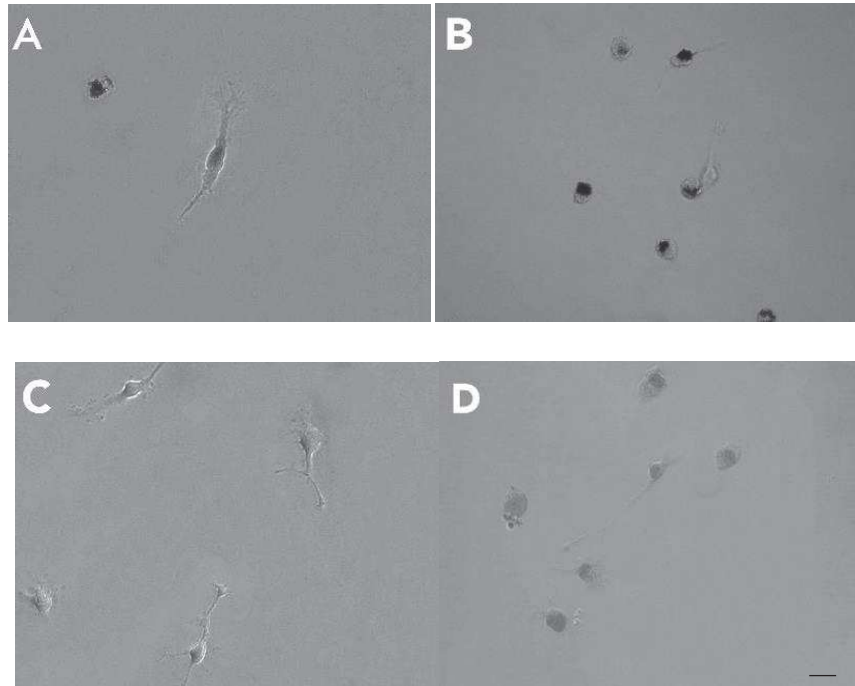


Figura 1 – Interação de macrófagos peritoneais estimulados com pigmento em concentração de 1:100 (A), 1:1000 (B), 1:10000 (C), controle (D) no tempo de 24h. Células observadas em microscópio de luz. Barra: 10 μ m.

5.2 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE E VIABILIDADE CELULAR

Para o teste de citotoxicidade, procuramos analisar no maior tempo experimental, que foi de 24h. Neste momento, foi identificado que em todas as concentrações estudadas, o pigmento não apresentou efeito citotóxico, contribuindo assim para viabilidade celular apresentada a seguir:

Tabela 3 - Avaliação da Viabilidade Celular

Controle	Viabilidade Celular
C1	98 vivas e 2 mortas
C2	100 vivas e 0 mortas
C3	92 vivas e 8 mortas

Pigmento 1:100	Viabilidade Celular
P1	97 vivas e 3 mortas
P2	95 vivas e 5 mortas
P3	97 vivas e 3 mortas

Pigmento 1:1000	Viabilidade Celular
P1	94 vivas e 6 mortas
P2	100 vivas e 0 mortas
P3	90 vivas e 10 mortas

Pigmento 1:10000	Viabilidade Celular
P1	100 vivas e 0 mortas
P2	99 vivas e 1 morta
P3	98 vivas e 2 mortas

Agentes físicos ou químicos podem induzir uma resposta inflamatória causando a ativação celular e a produção de mediadores inflamatórios, cursando como a produção de radicais livres, fagocitose e remodelagem tecidual. Quanto mais citotóxico for o pigmento, maior será o processo inflamatório e menor durabilidade terão as partículas de pigmento dentro da pele (ZIMMERMAM, 2017).

A avaliação de citotoxicidade e viabilidade celular nos sugere que o pigmento para Micropigmentação cutânea, não é citotóxico às células do modelo biológico utilizado, reforçando assim sua indicação para pigmentação cutânea cosmética.

Entretanto, vale salientar que outras classes de pigmento disponíveis no mercado podem se comportar de forma diferente nos tecidos biológicos, sendo necessários novos estudos para nortear quais classes de pigmentos são mais indicados utilizar sobre a pele, proporcionando maior estabilidade da tinta, maior durabilidade do procedimento, menos danos teciduais e, conseqüentemente, menor ativação do sistema imunológico.

CRUZ *et al.*, 2010 em seu estudo de casos, relatou que dois pacientes que apresentaram reações adversas aos pigmentos de tatuagem. Uma paciente do sexo

feminino de 24 anos, apresentou a biópsia após 3 anos de realização de uma tatuagem no tornozelo direito, hiperparaceratose, infiltrado inflamatório crônico liquenoide e perivascular, além de depósito de pigmento na derme, compatível com dermatite liquenoide. Já o segundo caso foi de um paciente do sexo masculino de 30 anos de idade, que após 8 meses da realização da tatuagem e exposição solar apresentou infiltrado inflamatório difuso, denso, linfocitário ao redor do pigmento, induzido na pele e com sugestão de pseudolinfoma, mostrando assim, que diferentemente dos resultados encontrados neste trabalho com a análise dos pigmentos de Micropigmentação, algumas cores de pigmentos de tatuagem apresentam um caráter citotóxico às células da pele, desencadeando mesmo que tardiamente reações inflamatórias adversas.

Entre todas as reações adversas relacionadas a indução de pigmentos exógenos na pele, as mais comuns são as reações de hipersensibilidade que podem ser imediatas ou levar dias e até mesmo anos para aparecer (KATZ *et al.*, 2008; JUHAS, 2013). A maioria dos estudos descreve reações alérgicas como dermatite de contato alérgico, entretando, as tatuagens coloridas tem uma maior capacidade de evoluir com reações granulomatosas e liquenoides, o que não é comum nos trabalhos realizados com tinta de Micropigmentação (KLUGL *et al.*, 2010; KAUR *et al.*, 2009).

As reações de hipersensibilidade alérgica podem ser classificadas como dermatite fotoalérgica ou de contato (WENZEL *et al.*, 2013). Estudos mostram que os pigmentos que apresentam maior capacidade de hipersensibilidade retardada são os de cor vermelho (mercúrio) e o preto (carbono preto), sendo este último um indutor de inflamação, devido aos seus hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, sendo excelentes fotossensibilizantes, capazes de gerar espécies reativas de oxigênio ao ser exposto a radiação ultravioleta (KAUR *et al.*, 2009; WENZEL *et al.*, 2013). Vale destacar essa informação, pois algumas tintas comercializadas no Brasil apresentam esses dois tipos de pigmentos para composição dos tons castanhos.

5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS CÉLULAS

Após a exposição dos macrófagos peritonais murinos ao pigmento inorgânico, observamos através da coloração em panótico que não houve mudança na morfologia das células nos grupos estimulados com pigmentos. Em todos os grupos

experimentais, os macrófagos exibiram morfologia típica de célula não ativada, com formação circular, não vacuolizada e núcleo bem definido. Poucos macrófagos espalhados foram observados nos grupos experimentais, indicando que o pigmento inorgânico pode estar induzindo pouca mudança morfológica nas células. Nota-se ao fundo alguns artefatos devido a agregação do pigmento nas lamínulas.

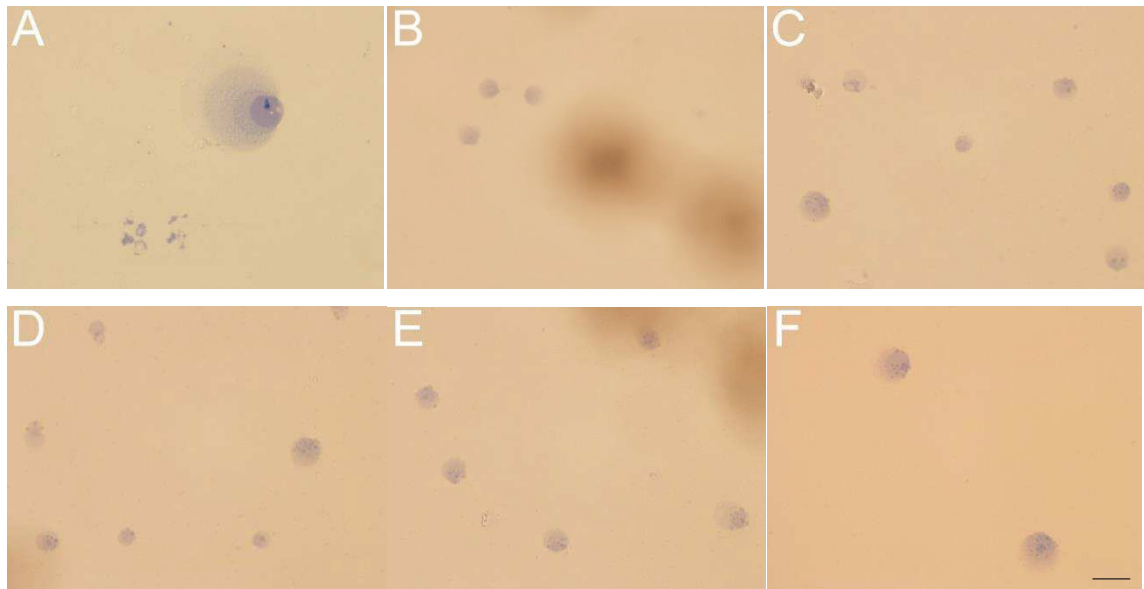
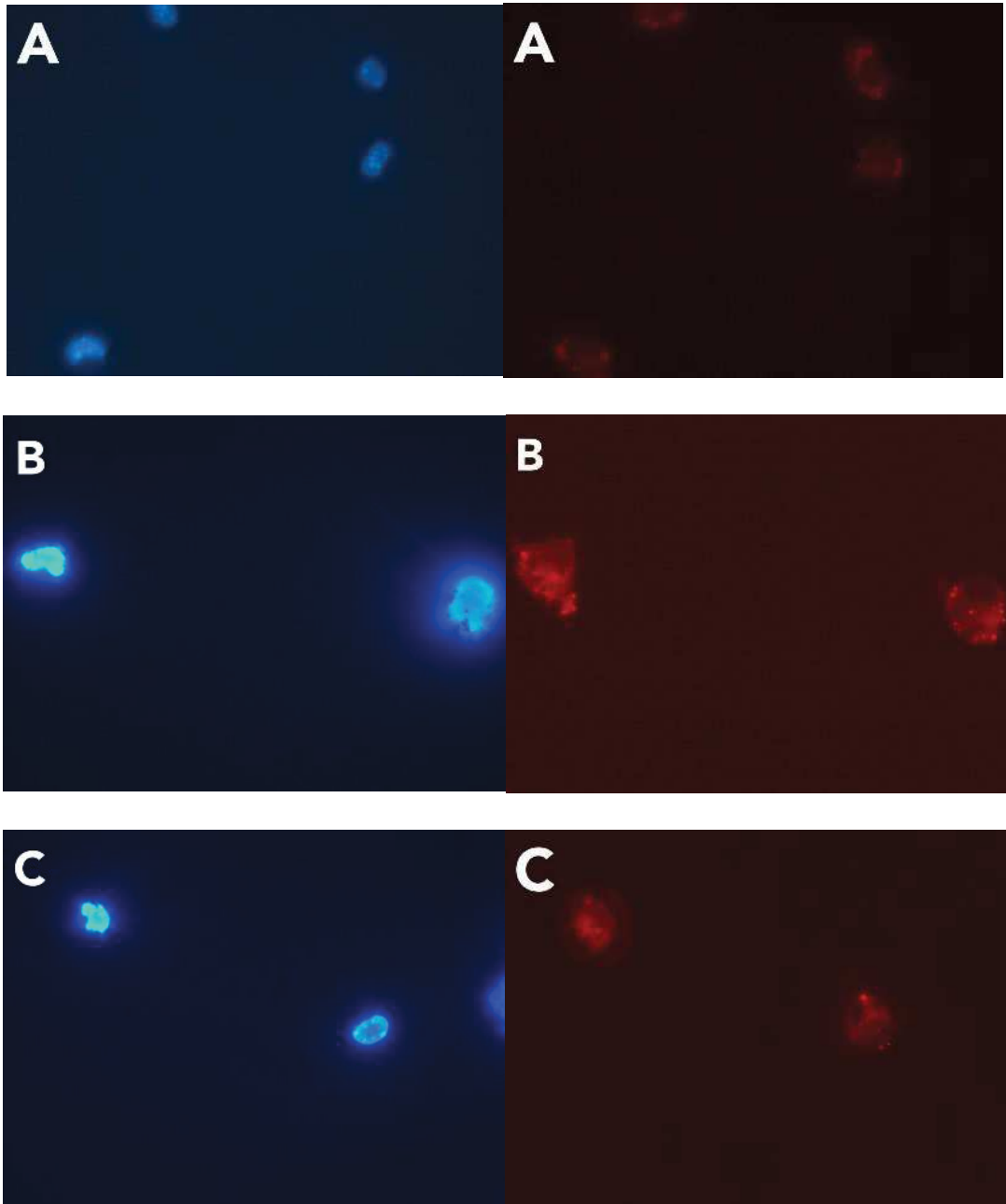


Figura 2 – Morfologia de macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000 e corados em kit de panótico rápido após 2, 4, 6, 8, e 24h de estimulação. Macrófagos observados em microscópio de luz Controle (A), 2h (B), 4h (C), 6h (D) 8h (E) e 24h (F). Barra: 10 μ m.

5.4 FORMAÇÃO DE CORPÚCULOS LÍPIDICOS

Após o experimento de endocitose do pigmento inorgânico, decidimos utilizar a dose de 1:1000 nas análises posteriores. Nestas condições observamos que as células expostas a tinta/pigmento demonstraram aumento na formação de CL conforme o tempo de exposição ao pigmento, sendo o grupo 24 horas, o que apresentou maior quantidade de CL após coloração com ORO e Bodipy (Figura 3 e Figura 4). O grupo 6 horas não foi demonstrado na coloração em ORO aqui, por problemas na montagem das lâminas para captura das imagens.



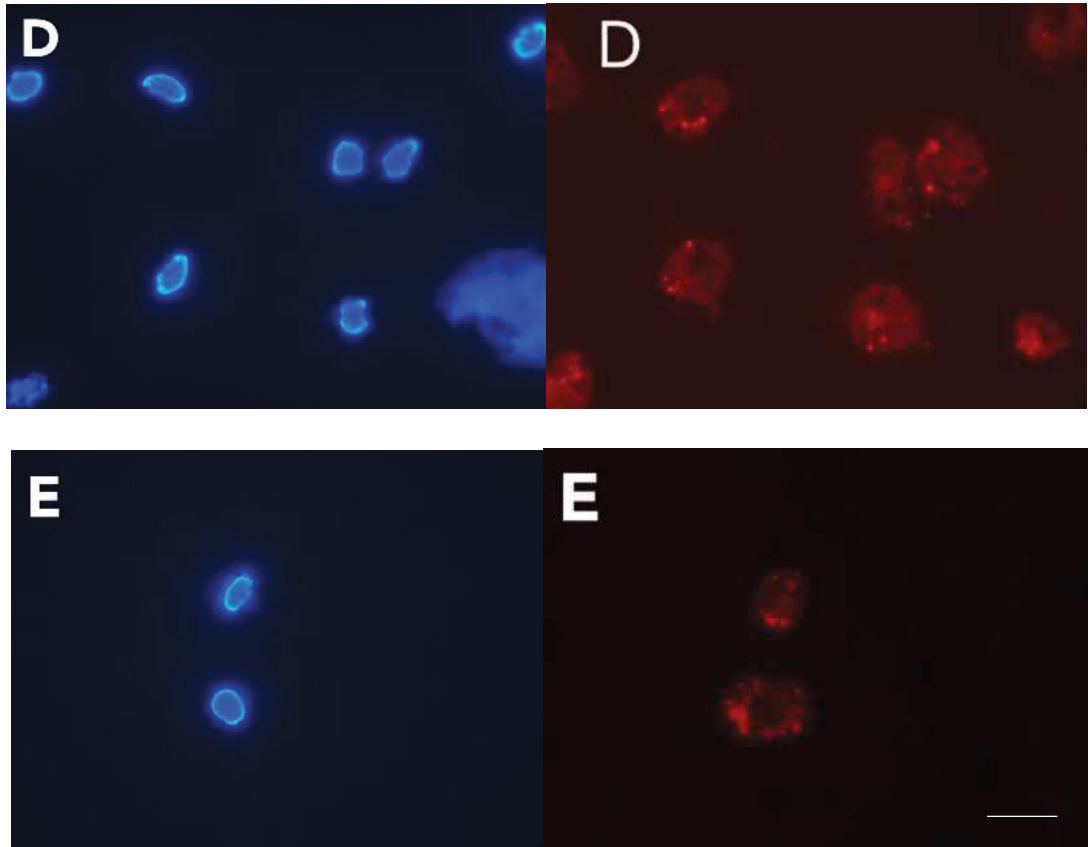


Figura 3 – Formação de corpúsculos lipídicos em macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000 e corados em ORO após 2, 4, 8, e 24h de estimulação. Macrófagos observados em microscópio de fluorescência. Núcleo corado com DAPI. Controle (A), 2h (B), 4h (C), 8h (D) e 24h (E). Barra:10 μ m.

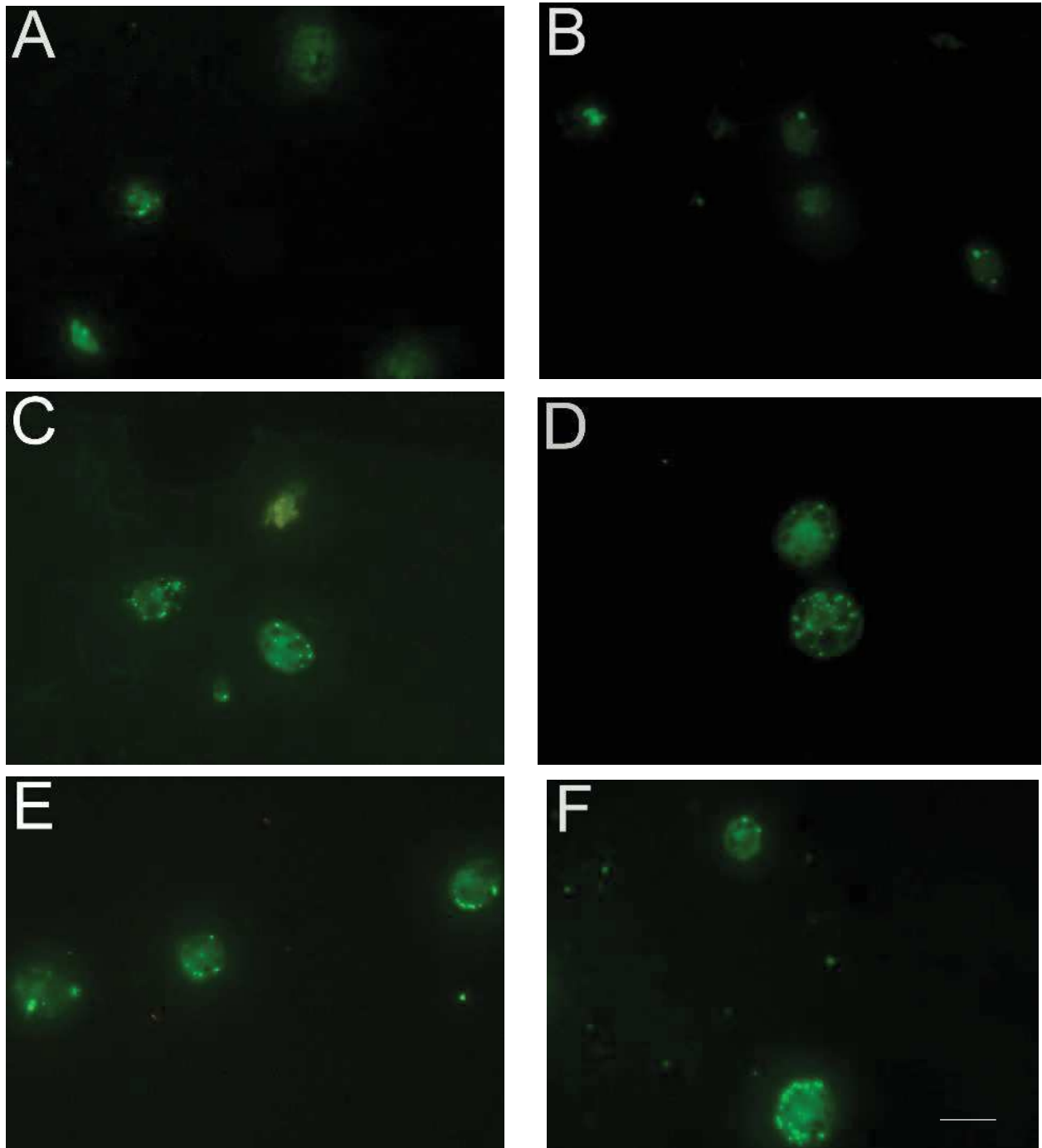


Figura 4 – Formação de corpúsculos lipídicos em macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000 e corados em Bodipy após 2, 4, 6, 8, e 24h de estimulação. Macrófagos observados em microscópio de fluorescência. Controle (A), 2h (B), 4h (C), 6h (D) 8h (E) e 24h (F). Barra: 10 μ m.

O aparecimento de CL nos sugere que por mais que o pigmento inorgânico não seja citotóxico nas células dos tecidos biológicos, o mesmo tem a capacidade de induzir a formação de sítios intracelulares de síntese de mediadores lipídicos, como

as PG, que são capazes de ativar a vasodilatação tecidual e o recrutamento de novas células do sistema imune inato (D' AVILA *et al.*, 2021), desencadeando assim uma resposta inflamatória diante da endocitose das partículas sólidas de pigmento

Destaca-se ainda nestas análises *in vitro* o protagonismo das partículas sólidas de pigmento, capazes de ativar a cascata inflamatória intracelular a partir da formação de CL, isentando neste processo em específico o mecanismo tradicional de indução do pigmento, o qual conta com uma agulha para romper a barreira cutânea e induzir a penetração do pigmento dentro da pele.

5.5 CONTAGEM DE CORPÚCULOS LÍPIDICOS

A exposição ao pigmento inorgânico induziu o aumento da formação de CL dentro dos macrófagos peritoneais na dose/concentração de 1:1000 em todos os tempos do experimento. Entretanto apenas o grupo de 24 horas apresentou uma diferença significativa ($p < 0,05$), se comparado com o grupo controle (Figura 5).

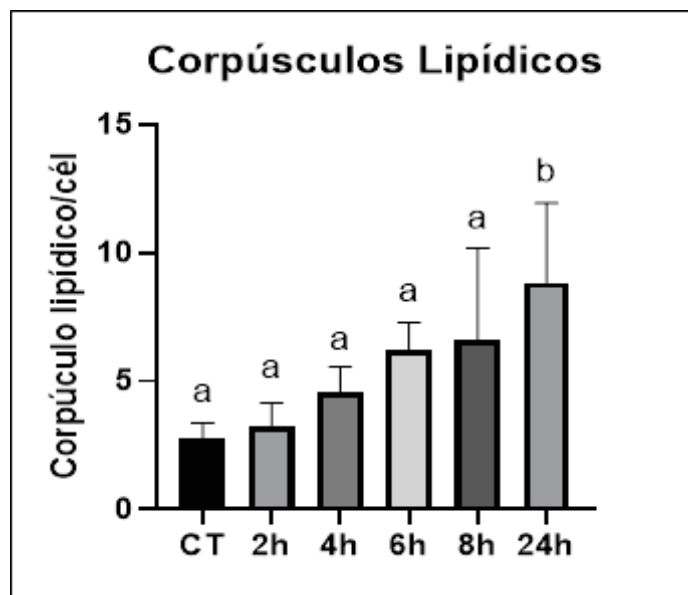


Figura 5 – Formação de corpúsculos lipídicos em macrófagos murinos estimulados *in vitro* com pigmento inorgânico na dose de 1:1000. Controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Médias seguidas de letra

semelhante não diferem significativamente entre si. CL foram contados após coloração com ORO. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$).

Dessa forma podemos inferir que quanto maior o tempo de exposição dos macrófagos ao pigmento inorgânico, mais CL as células terão a capacidade de formar, induzindo assim um caráter inflamatório no sítio de análise.

5.6 DOSAGEM DE CITOCINAS TNF- α , TGF β ¹, PGE₂ E IL-10

Ao realizarmos as dosagens de citocinas TNF- α (Figura 6) e IL-10 (Figura 7) não observamos diferenças significativas dessas citocinas nas amostras analisadas entre o grupo controle e estimulados com pigmento inorgânico.

Em relação ao TNF- α vimos uma tendência de aumento da citocina nos grupos 8h e 24h, entretanto os valores expressos em pg/ml, não são estatisticamente diferentes. Já a IL-10 por sua vez, foi observada uma pequena quantidade apenas nos grupos 2h e 24h, mas também não foi estatisticamente diferente do grupo controle, sugerindo que o pigmento não tem, ou tem pequeno efeito indutor de inflamação no modelo experimental utilizado.

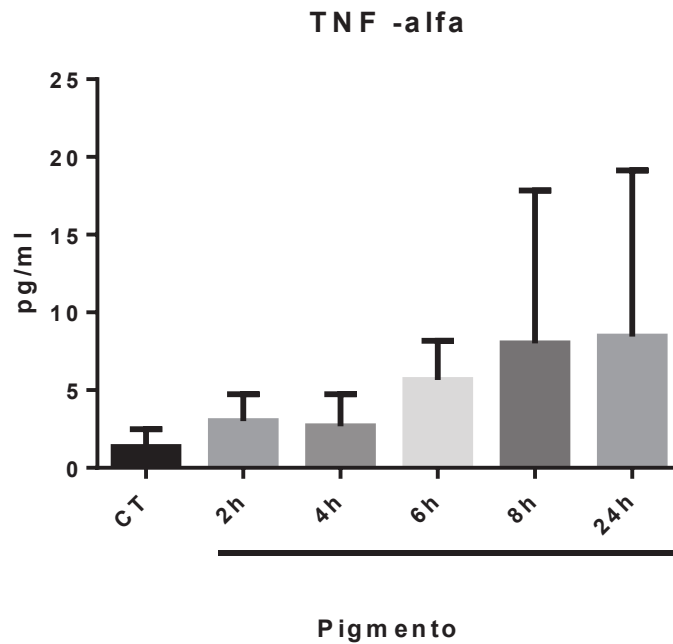


Figura 6 – Síntese de TNF- α em macrófagos murinos estimulados com pigmento inorgânico na concentração de 1:1000 nos grupos controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$). Dados expressos em em pg/ml.

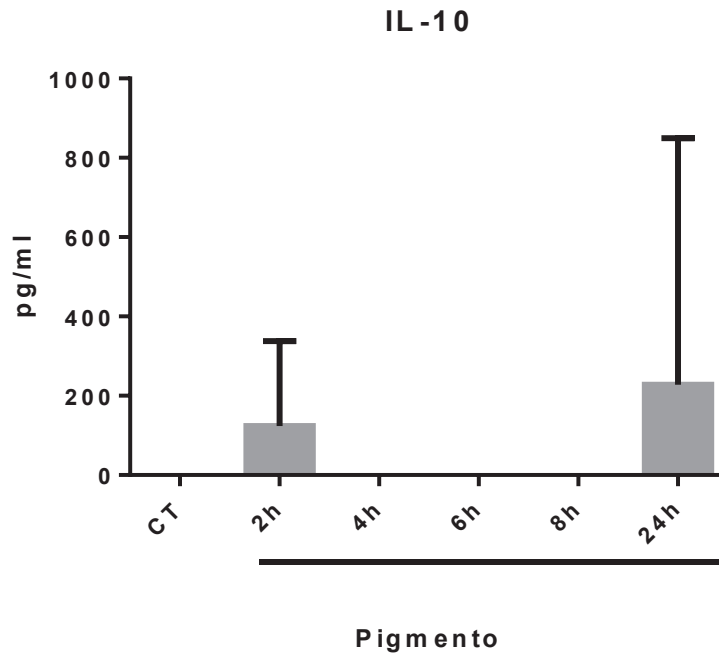


Figura 7 – Síntese de IL-10 por macrófagos murinos estimulados com pigment inorgânico na concentração de 1:1000 nos grupos controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$). Dados expressos em em pg/ml.

Em relação ao TGF β_1 e a PGE $_2$ não houve diferença estatística entre os grupos estimulados e o controle, no entanto apresentou uma tendência de aumento, assim como foi observado esse aumento na formação de CL. Esses dados em conjunto sugerem que no tempo de 24 horas pode ocorrer uma certa ativação celular devido a presença de CL, mesmo assim, não houve uma produção considerável de mediadores inflamatórios nos tempos analisados.

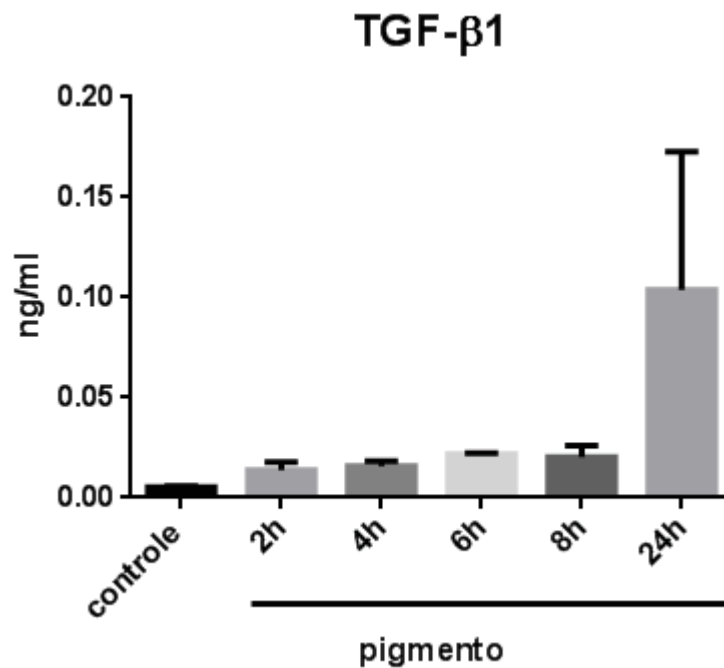


Figura 8 – Síntese de TGF β_1 por macrófagos murinos estimulados com pigmento inorgânico na concentração de 1:1000 nos grupos controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$). Dados expressos em em pg/ml.

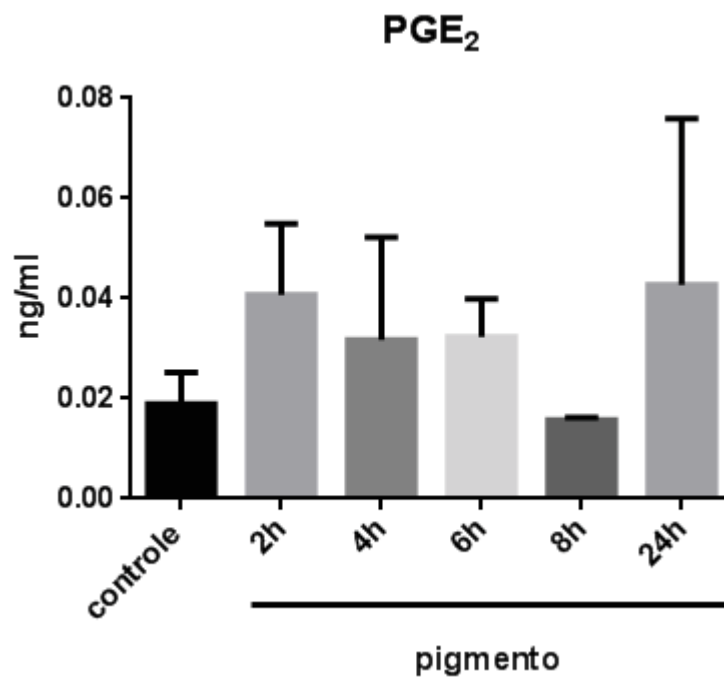


Figura 9 – Síntese de PGE₂ por macrófagos murinos estimulados com pigmento inorgânico na concentração de 1:1000 nos grupos controle, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h. Dados analisados por ANOVA post-hoc Tukey ($p < 0,05$). Dados expressos em em pg/ml.

Em relação ao NO não houve expressão desse radical livre nas amostras dos grupos estudados. Tendo em vista o caráter microbicida e sua expressão ocorrer mediada pela ativação de macrófagos, de forma geral, esse dado reforça que o pigmento inorgânico não induz uma resposta microbicida no modelo experimental estudado.

Em um estudo de caso observando o comportamento do pigmento vermelho, ONO *et al.*, (2014) relataram um quadro de lesão inflamatória pruriginosa crônica na porção lateral da perna esquerda de um paciente do sexo masculino de 27 anos, com seis semanas de evolução sobre tatuagem realizada há quatro meses. A biópsia da tatuagem demonstrou hiperparaqueratose, infiltrado inflamatório liquenoide crônico, com comprometimento perivascular sugestivo de dermatite liquenoide. O que corrobora com os dados anteriores, mostrando que os pigmentos exógenos utilizados na tatuagem tem um caráter inflamatório, diferentemente dos resultados encontrados por nós, nas dosagens de citocinas *in vitro* deste estudo.

Para MARCELINO *et al.* (2021) as reações adversas de carácter inflamatório provocadas pela indução do pigmento durante a Micropigmentação, não se dá apenas pelas características do pigmento. Em um relato de caso, o autor observou que uma paciente do sexo feminino de 64 anos, branca, sem comorbidades prévias, apresentou prurido intenso, com formação de pápulas estritamente sobre o local da pigmentação, após um mês de realização de Micropigmentação de sobrancelhas. Ao realizar a biópsia da pele, observou-se que a área apresentava a hiperplasia na epiderme, caracterizada por proliferação das células do corpo mucoso de Malpighi, formando invaginações piriformes para a derme, com acúmulo progressivo de material amorfo e eosinofílico, compatível com molusco contagioso. Mostrando assim, que os cuidados pós procedimentos devem ser bem descritos e orientados pelos profissionais aos pacientes, para que processo de infecção como esse, não afetem a regeneração da pele do paciente.

6 CONCLUSÃO

Nossos dados nos permitem concluir que os pigmentos inorgânicos utilizados não foram tóxicos para as células nas doses de 1:100, 1:1000 e 1:10000, no tempo de 24h de estimulação. A análise morfológica das células observadas em microscopia de luz, mostrou que os macrófagos, após a exposição ao pigmento inorgânico utilizado, mantiveram a morfologia de células normais, com forma e núcleo circulares bem definidos.

De acordo com as condições experimentais deste estudo, foi possível observar que a melhor concentração (dose/efeito) foi 1:1000, apresentando viabilidade celular igual ou superior a 95% ao teste de exposição *in vitro*, permitindo boa visualização da endocitose dos pigmentos. Adicionalmente, observamos que em todos os tempos analisados foi observada a formação de CL. Este dado sugere uma pequena ativação celular, além de uma possível síntese de mediadores inflamatórios, uma vez que estas organelas são sítios de síntese de mediadores inflamatórios (D'AVILA *et al.*, 2006).

A contagem de CL nos mostrou que existe um aumento gradativo na formação dessas organelas, entretanto, apenas o grupo 24h apresentou uma diferença significativa, se comparado com o grupo controle. Dessa forma, nossos dados sugerem que o pigmento inorgânico utilizado é um elemento de caráter pouco Inflamatório na Micropigmentação.

As citocinas TNF- α e IL-10 foram pouco expressas nas amostras analisadas, bem como a expressão de TGF- β ¹ e PGE₂ que não se mostrou estatisticamente significativo, se comparado com o grupo controle, corroborando com a ideia de que o pigmento inorgânico utilizado não é tóxico e inflamatório para esse modelo utilizado.

Não houve expressão de NO nas amostras dos grupos estudados. Tendo em vista o caráter microbicida e sua expressão ocorrer mediada pela ativação de macrófagos, de forma geral, esse dado reforça que o pigmento inorgânico utilizado não induz uma resposta microbicida no modelo experimental estudado.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, N. S.; PENA, J. M.; EDGE, M.; LIAUW, C. M.; **Polymer Degradation and Stability**. ELSEVIER, 2000.

ARAUJO, L. **Tatuagem, piercing e outras mensagens do corpo**. São Paulo: Cosac Naify, 2005.

AZEVEDO, Á., M., V., S. **Design e tatuagem: cores e complexidades**. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

BARRIENTOS, S.; STOJADINOVIC, O.; GOLINKO, M. S.; BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. **Growth Factors and Citokines in Wound Healing**. Wound Repair Regen. 16(5): 585-601, 2008.

BECHELLI, L. M.; CURBAN, G. V. **Compêndio de Dermatologia**. 2 ed. São Paulo: Atheneu Editora, 1963.

BETZ, M.; FOX, B. S. **Prostaglandin E2 Inhibits Production of Th1 Lymphokines but not of Th2 Lymphokines.** J Immunol. 146: 108-113. 1991

BOZZA, P. T.; BANDEIRA-MELO, C. **Mechanisms of Leukocyte Lipid Body Formation and Function in Inflammation.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 100, p. 113- 120, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Referência técnica para o funcionamento dos serviços de tatuagem e piercing.** Brasília, 2009. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/7259210047457ee38aacde3fbc4c6735/Tatuagem+e+Piercing.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2020.

BROUGHTON, G. 2nd; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. **The Basic Science of Wound Healing.**Plast Reconstr Surg. 117(7 Suppl): 12S-34S, 2006.

CALDERAN, A., P. **Ensino e aprendizagem de Química a partir da temática tintas para tatuagem.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, 2017.

CARVALHO, R. A.; LOPES, E. B.; SILVA, A. C.; LEANDRO, R. S.; CAMPOS, V. B. **Controle alternativo da cochonilha do carmim em palma forrageira no cariri paraibano.**2016 Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/174/arquivos/174_05122008112054.pdf>. Acesso em: 28 maio 2020.

CRUZ, F. A. M; FRIGÉRIO, R. M; ARRUDA, L. H. F; LAGE, D; ZANIBONI, M. C. Reações aos diferentes pigmentos de tatuagens: relato de dois casos. **An Bras Dermatol.** 2010;85(5):708-11.

CUNHA, A. P. da; SILVA, A. P. da; ROQUE, O. R.; CUNHA, E. **Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia.** Serviço de Educação e Bolsas. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2004.

D'AVILA, H.; MELO R. C.; PARREIRA, G. G.; WERNECK-BARROSO, E.; CASTRO FARIA NETO, H. C.; BOZZA, P. T. **Mycobacterium Bovis BCG Induces TLR 2-mediated Formation of Lipid Bodies: Intracellular Domains for Eicosanoid Synthesis in Vivo.** Journal of Immunology. 176: 3087-3097, 2006

D'AVILA, H.; MAYA-MONTEIRO, C. M.; BOZZA, P.T. **Lipid Bodies in Innate Immune Response to Bacterial and Parasite Infections.** *International Immunopharmacology*, 2008.

FALTA DÁVILA et al., 2021

DIAZ, B. L.; ARM, J. P. **Phospholopase A(2).** *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 69, n. 2-3, p. 87-97, 2003.

DUARTE, S.; CALHEIROS, L. Micropigmentação em evolução. **Revista Profissão Beleza.** Ano XII, n. 69, p. 46-47, 2011.

FAZENDA, J. M. R. **Tintas e Vernizes: Ciência e Tecnologia**, 2. ed. ABRAFATI: São Paulo, 1995.

FERREIRA, C. M.; D'ASSUMPÇÃO, E. A. **Cicatrices Hipertróficas e Queloides.** *Revista Sociedade Brasileira Cirurgia Plástica.* São Paulo, v.21, n.1, p. 40-8, jan/mar., 2006.

FOGAÇA, J. R. V. **A Química Envolvida na Cor da Pele.** Brasil Escola. Disponível em: <<http://brasilecola.uol.com.br/quimica/a-quimica-envolvida-na-cor-pele.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2021.

GIARETTA, E. **Dermopigmentação – arte e responsabilidade.** 1 ed. E 3 ed. Rio de Janeiro: Livre Expressão, 2015.

JUHAS, E. Tattoo-associated complications. **Journal of pediatric and adolescent gynecology.** 26(2):125-9, 2013.

KATZ, M; ELSNER, P; BAUER, A. Body-modifying concepts and dermatologic problems: tattooing and piercing. **Clinics in dermatology.** 26(1):35-44, 2008.

KAUR, R. R; KIRBY, W; MAIBACH, H. Cutaneous allergic reactions to tattoo ink. **Journal of cosmetic dermatology.** 8(4):295-300, 2009.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia.** Rio de Janeiro: Elsevier; p. 168-70, 2004.

KLUGL, I; HILLER, K. A; LANDTHALER, M; BAUMLER, W. Incidence of health problems associated with tattooed skin: a nation-wide survey in German-speaking countries. **Dermatology (Basel, Switzerland).** 221(1):43-50, 2010.

KUSMINSKI, C. M.; S. SHETTY, L.; ORCI, R. H.; UNGER, and P. E.; SCHERER. **Diabetes and Apoptosis: Lipotoxicity. Apoptosis.** 14: 1484-1495, 2009.

MACCHIAVELLI, M. **Tatuagem com henna.** São Paulo: Editora Globo, 2001.

MARCELINO, F. F. N; OLIVEIRA-FILHO, J; JUNQUEIRA, G. M. D; NOGUEIRA, M. F; MICHALANY, A. O. Molusco contagioso como complicação de tatuagem: um relato de caso e revisão da literatura. **Surg Cosmet Dermatol.** 13:e20210008, 2021.

MARTIN, S.; PARTON, R. G. **Lipid Droplets: A Unified View of a Dynamic Organelle.** Nature Reviews. Molecular Cell Biology, v. 7, n. 5, p. 373-378, 2006.

MARTINS, A *et al.* **Micropigmentação – a beleza feita com arte.** 3 ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista, 2009.

MARTINS, C., J; BEHLING, H., P. **Tatuagem e Comunicação – O corpo como meio e a tatuagem como mensagem.**Chapecó: INTERCOM, 2012.

MONJAZEB, A. M.; HIGH, K. P.; CONNOY, A.; HART, L. S.; KOUMENIS, C.; CHILTON, F. H. **Arachidonic Acid-induced Gene Expression in Colon Cancer Cells.** Carcinogenesis, v. 27, n. 10, p. 1950-1960, 2006.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F. **Anatomia Orientada para a Clínica.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

MURPHY, D. J. ; VANCE, J. **Mechanisms of Lipid-body Formation.** Trends in Biochemical Sciences, v. 24, n. 3, p. 109-115, 1999.

MURPHY, D. J. **The Biogenesis and Functions of Lipid Bodies in Animals, Plants and Microorganisms.** Progress in Lipid Research, v. 40, n. 5, p. 325-438, 2001.

ONO, M. C . C; BALBINOT, P; MORAIS, R. L. S. L; FREITAS, R. S. Reações ao pigmento vermelho. **Surg Cosmet Dermatol.** 6(1):82-5, 2014.

PACHECO, P.; BOZZA, F. A. *et al.* **"Lipopolysaccharide-induced Leukocyte Lipid Body Formation in Vivo: Innate Immunity Elicited Intracellular Loci Involved in Eicosanoid Metabolism."**J Immunol 169(11): 6498-6506, 2002.

PACHECO, P.; VIEIRA-DE-ABREU, A. *et al.* **"Monocyte Chemoattractant Protein-1/CC Chemokine Ligand 2 Controls Microtubule-driven Biogenesis and**

Leukotriene B4-synthesizing Function of Macrophage Lipid Bodies Elicited by Innate Immune Response." J Immunol 179(12): 8500-8508, 2007.

PRESCOTT, S. M. ; FITZPATRICK, F. A. **Cyclooxygenase-2 and Carcinogenesis.** Biochimica et Biophysica Acta, v. 1470, n. 2, p. M69-M78, 2000.

PRESCOTT, S. M.; ZIMMERMAN, G. A.; STAFFORINI, D. M.; MCINTYRE, T. M. **Platelet-activating Factor and Related Lipid Mediators.** Annual Review of Biochemistry, v. 69, n. 1, p. 419-445, 2000.

RENZ, H.; GONG, J. H.; SCHIMIDT, A.; NAIN, M.; GEMSA, D. **Release of Tumor Necrosis Factor-alpha from Macrophages. Enhancement and Suppression are Dose-dependently Regulated by Prostaglandin E2 and Cyclic Nucleotides.** J Immunol. 141: 2388-2393, 1988.

ROBENEK, M. J.; SEVERS, N. J.; SCHLATTMANN, K.; PLENZ, G.; ZIMMER, K. P.; TROYER, D.; ROBENEK, H. **Lipids Partition Caveolin-1 from ER Membranes into Lipid Droplets: Updating the Model of Lipid Droplet Biogenesis.**The FASEB Journal, v. 18, n. 7, p. 866-868, 2004.

SARTORI, L. R.; LOPES, N. P.; GUARATINI, P. **A Química no cuidado da Pele.** São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2010.

SHENG, H.; SHAO, J.; WASHINGTON, M. K.; DUBOIS, R. N. **Prostaglandin E2 Increases Growth and Motility of Colorectal Carcinoma Cells.**Journal of Biological Chemistry, v. 276, n. 21, p. 18075-18081, 2001.

SHRIVER, D.; ATKINS, P. **Química Inorgânica**, 4a Ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

STUKEY, M.; EILKS, I. Chemistry under Your Skin? Experiments with Tattoo Inks for Second School Chemistry Students. **Journal of Chemical Education.** v.92 p.129-134, 2015.

SWARTZ, M. H. **Textbook of Physical Diagnosis, history and Examination**, 4 th ed. Philadelphia: Saunders, 2001.

TOWNSEND, C. M.; BEAUCHAMP, D.; EVERS, M.; MATTOX, K. L. **Sabiston Textbook of Surgery.** St Louis, MO: Elsevier; p.192-207, 2011.

TSUJII, M.; KAWANO, S.; TSUJI, S.; SAWAOKA, H.; HORI, M.; DUBOIS, R. N. **Cyclooxygenase Regulates Angiogenesis Induced by Colon Cancer Cells.** Cell, v. 93, n. 5, p. 705-716, 1998.

VELOSO, L. de A. **Dossiê Técnico: corantes e pigmentos.** Instituto de Tecnologia do Paraná. 2015. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTcwOA>>. Acesso em: 28 maio 2020.

VIDAL, S. **Tingimento têxtil: fibras, conceitos e tecnologias.** I. ed. São Paulo: Blucher- Golden Tecnologia, 2010.

VIGUÉ, J.; MARTÍN, E. **Atlas do Corpo Humano.** 1. ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2007.

VISCIGLIA, S. C. **Tatuagem sobre o ponto de vista químico.** PET-QUIMICA Unesp Araraquara. 2014. Disponível em: <<https://petquim.wordpress.com/2014/08/07/tatuagens-sob-o-ponto-de-vista-quimico/>>. Acesso em: 28 maio 2020.

WENZEL, S. M.; RITTMANN, I.; LANDTHALER, M.; BAUMLER, W. **Adverse Reactions after Tattooing: Re-view of the Literature and Comparison to Results of a Survey.** Dermatology. 226(2): 138-47, 2013.

YEDGAR, S.; COHEN, Y.; SHOSEYOV, D. **Control of Phospholipase A2 Activities for the Treatment of Inflammatory Conditions.** Biochimica et Biophysica Acta, v. 1761, n. 11, p. 1373-1382, 2006.

ZIMMERMANN, D. C. F. **Investigação dos potenciais anti-inflamatório e antitumoral de análogos do resveratrol.** Tese(Doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, 2017.