

COSMÉTICA AL DÍA

LLORENÇ PONS

Consultor farmacéutico. Miembro externo del Comité Europeo de Cosmetología (Bruselas).



Los antioxidantes biológicos y su difícil formulación (II)

Si siguiendo con la formulación de los antioxidantes biológicos, hemos de decir que también la vitamina E, considerada como un ingrediente clásico en la formulación de productos cosméticos antioxidantes, sigue siendo el centro de investigación de muchas universidades y laboratorios.

Merece una especial atención el trabajo realizado por Zulli, Reutlinger, Liechti et al¹, en el cual se recuerda que la radiación UVA puede inducir la formación de compuestos tóxicos cuando incide sobre el alfatocoferol.

Estos autores recuerdan que la radiación UVA provoca la peroxidación de diferentes lípidos (un proceso que puede ser inhibido mediante antioxidantes como el alfatocoferol) e insisten, como muchos otros autores, en que el acetato de tocoferol es poco eficaz en la protección de los lípidos, aunque admiten que, después de su absorción por la piel, este éster puede resultar hidrolizado y liberar la vitamina E activa.

En su trabajo plantean el interés que puede suponer la introducción de vitamina E en cultivos de células (utilizan la cepa TK 6 de células linfoblastoides).

Para conocer la toxicidad de los lipoperóxidos que forman diversos lípidos insaturados irradiados con UVA, así como la capacidad protectora del alfatocoferol y del acetato de tocoferol, prepararon 13 diferentes microemulsiones O/W (denominadas nanoemulsiones).

Mediante una técnica adecuada, obtuvieron emulsiones transparentes que contenían un 1% de fase lipófila y un 0,6% de emulgente (fosfolí-

pidos purificados extraídos de la lecitina de soja), consiguiendo que el tamaño de las vesículas que forman la fase interna fuera inferior a los 60 nm. Esta elevada proporción de emulgente, en relación con la fase lipófila, y el uso de un microfluidizador a elevadas presiones, dio lugar a la formación de microemulsiones muy estables que carecían de bicapas lipídicas (liposomas) y se caracterizaban por su capacidad para ceder ingredientes lipófilos a las células vivas de un cultivo².

Los autores de este trabajo habían demostrado con esta técnica³ que las nanoemulsiones que contenían escualeno liberaban peróxidos muy tóxicos, cuando previamente se había procedido a su irradiación con UVA.

Para poder realizar un estudio comparativo prepararon tres nanoemulsiones que contenían en su fase lipófila: 1) aceite de borraja; 2) escualeno más triglicérido oleico, y 3) triglicérido oleico. Otras 10 nanoemulsiones contenían una fase lipófila más compleja, en la cual se incluían los lípidos insaturados (aceite de borraja o triglicérido oleico) mezclados con proporciones variables de alfatocoferol o acetato de tocoferol (p. ej., 0,75% de aceite de borraja más 0,25% de alfatocoferol).

En la primera parte de este trabajo 10 ml de cada una de las tres nanoemulsiones que no contenían vitamina E fueron irradiadas con UVA (365 nm, 75 Jcm² durante 3 horas). Inmediatamente después se determinó el nivel de lipoperóxidos mediante las técnicas del ácido tiobarbitúrico (TBARS, tiobarbituric acid reactive species, a 532 nm) y de Fox (este ensayo se realiza a 560 nm).

Ambos sistemas de determinación demostraron que el aceite de borraja¹ generaba una elevada concentración de peróxidos lipídicos —muy lógico, ya que dicho aceite contiene un 25% de ácido gamma linoleico— y que el triglicérido oleico³ era muy estable y prácticamente no generaba peróxidos. También comprobaron que el escualeno generaba peróxidos, cuya presencia sólo se podía detectar con el ensayo de Fox.

En todas las nanoemulsiones que contenían antioxidante se observó que:

- El alfatocoferol protegía los lípidos con mucha eficacia, de forma proporcional a su concentración.
- El acetato de tocoferol era muy poco eficaz.

De acuerdo con un protocolo riguroso, la presencia de un 4% de estas diferentes nanoemulsiones sin irradiar con UVA en el medio de cultivo de las células linfoblastoides TK 6 demostró que no se detectaba una citotoxicidad. Pero la viabilidad de las células cuando se incorporaban las nanoemulsiones que contenían aceite de borraja irradiadas con UVA era muy escasa, incluso en presencia de un 20% de alfatocoferol y de un 20% de acetato de tocoferol.

Los ensayos realizados con las nanoemulsiones que contenían triglicérido oleico mostraron un sorprendente resultado, ya que esta fase lipídica, tanto sola como mezclada con un 20% de acetato de tocoferol, irradiada con UVA, carecía de toxicidad para el cultivo celular, mientras que la presencia de alfatocoferol, irradiado con UVA, mostraba una gran toxicidad celular.

Este comportamiento, según los autores del estudio, significa que la radiación UVA provoca en la vitamina E pura la aparición de radicales tocoferilo que en un medio biológico (como es el cultivo celular) actúan como compuestos tóxicos que agravan el estrés oxidativo.

Esto no se contradice con la realidad demostrada *in vitro* e *in vivo* de que los tocoferoles naturales son muy eficaces en contrarrestar la formación de peróxidos.

Pero conviene recordar que desde hace muchos años se tiene el convencimiento de que dosis elevadas de antioxidantes pueden ser responsables de incrementar el proceso oxidativo, tal como se ha demostrado repetidamente en diversos ensayos *in vitro*. Estamos, por tanto, ante las dos caras de una misma moneda, lo cual plantea de nuevo la dificultad de desarrollar formulaciones cosméticas que sean cada vez más eficaces y seguras.

Hidratación y función barrera

Otro reciente y curioso estudio, realizado conjuntamente por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Belgrado y por el Departamento de

Dermatología de la Universidad de California en San Francisco⁴, investiga la eficacia hidratante y la función barrera cutánea de diversas emulsiones O/W que contienen un 5% de acetato de tocoferol.

Para ello utilizaron protocolos bien establecidos que permiten determinar la capacitancia del estrato córneo y la pérdida de agua por vía transepidérmica (TEWL).

Los autores recuerdan las importantes funciones que a lo largo de los años se ha demostrado que puede desarrollar la vitamina E por vía tópica en formulaciones cosméticas, especialmente su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica, proteger la piel de la agresión UV, reducir las líneas faciales y arrugas, y favorecer la hidratación cutánea. Insisten en que su nivel de eficacia depende tanto del vehículo como de la concentración utilizada, y citan otro reciente trabajo de Rangarajan y Zatz⁵ que considera como muy eficaz la formulación que contiene un 5% de acetato de tocoferol.

Para la realización de su ensayo formularon tres tipos de emulsiones O/W, en las cuales se utilizaba un 0,3% de un polímero acrílico emulgente (que se tuvo que neutralizar con trietanolamina) y se incorporaba a cada emulsión un 25% de una fase lipídica diferente: oleil oleato en la emulsión E1, decil oleato en la emulsión E2 y octil estearato en la emulsión E3. Estas tres emulsiones contenían también un 5% de acetato de tocoferol. Su eficacia respectiva se pudo comparar con idénticas emulsiones placebo (P1, P2 y P3) en las cuales se había excluido el acetato de tocoferol.

Todas las emulsiones presentaban un pH fisiológico (oscilaba entre 5,4 y 6,1) y los estudios de capacitancia demostraron que las 3 emulsiones placebo incrementaban muy poco la hidratación del estrato córneo: 1, 1,5 y 1,7%, respectivamente (comparando con la zona cutánea en la que no se aplicó ninguna emulsión), mientras que las emulsiones que contenían acetato de tocoferol incrementaban la capacitancia del estrato córneo: 6,5, 9 y 10,4%, respectivamente. Todos estos valores relativos corresponden a determinaciones realizadas 6 horas después de la aplicación de las respectivas emulsiones.

Los autores constatan que las determinaciones realizadas a las 4, 5 y 6 horas siempre indicaron que la hidratación más elevada correspondía a la fase lipídica octil estearato. Y consideran que la incorporación de este lípido a la superficie cutánea «enriquece» las estructuras lamelares lipídicas del estrato córneo, favoreciendo su hidratación. También suponen que probablemente esta fase lipídica facilita la penetración del acetato de tocoferol, que incrementa a su vez la hidratación cutánea debido a su actividad antioxidante y estabilizadora de las membranas.

Las determinaciones del TEWL dieron resultados interesantes que demuestran la complejidad que existe entre el nivel de hidratación del estrato córneo y el nivel de pérdida de agua por vía tran-



sepidérmica. Durante los últimos años han aparecido diferentes publicaciones que muestran resultados dispares, lo cual hace suponer que existe una probable falta de correlación entre ambos valores.

En el estudio que reseñamos las determinaciones realizadas demostraron que a los 30 minutos de aplicar las emulsiones, y también al cabo de 1, 2 y 6 horas, el nivel de disminución del TEWL era muy superior en la emulsión cuya fase lipídica estaba formada por oleil oleato.

Por tanto, es interesante constatar que existe una correlación inversa entre las diferentes fases lipídicas, ya que el octil estearato es el vehículo más eficaz en la hidratación del estrato córneo, pero es el menos eficaz en reducir la pérdida de agua por vía transepidérmica. Este comportamiento coincide con el hecho de que el oleil oleato es el vehículo lipídico más eficaz para reducir el TEWL, pero resulta ser el menos activo cuando se determina la hidratación (capacitancia) del estrato córneo.

Todos estos datos demuestran que están pendientes muchas investigaciones que nos aclaren el comportamiento y la eficacia de los antioxidantes biológicos. Afortunadamente, los esfuerzos en este campo es casi seguro que nos aportarán nuevos datos útiles a corto plazo. □

Bibliografía

1. Zulli F, Reutlinger S, Liechti C et al. UV-A induced formation of toxic compounds in Vitamin E. IFSCC Conference Proceedings Stockholm, 2001; 239-248.
2. Zulli F, Liechti Ch, Suter F. Controlled delivery of lipophilic agents to cell cultures for in vitro toxicity and biocompatibility assays. *Int J Cos Sci* 2000; 22: 265-270.
3. Zulli F, Belser E, Reutlinger S et al. Cell toxicity of UV-A irradiated squalene. *SöFW* 1999; 125: 4-8.
4. Djordjevic J, Vuleta G, Maibach H et al. Effect of the oil phase of O/W emulsions with vitamin E acetate on skin moisture content and skin barrier function. IFSCC Conference Proceedings Stockholm, 2001; 85-92.
5. Rangarajan M, Zatz J. Skin delivery of vitamin E. *Int J Cosm Sci* 1999; 50: 249-279.