

## EFECTO DE LOS ALFA-HIDROXIACIDOS EN LA PERMEABILIDAD DE LA EPIDERMIS HUMANA *IN VITRO*

Octavio Díez Sales, Alfonso Copoví, Marina Herráez

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Valencia. Avenida Vicente Andrés Estellés s/n . 46100 Burjassot ( Valencia)

### Introducción

Los alfa-hidroxiácidos (AHAs) se utilizan frecuentemente en formulaciones para aplicación sobre la piel. Aunque durante muchos años su principal función era ajustar el pH del producto terminado, también se han utilizado en dermatología para el tratamiento de diversas alteraciones relacionadas con anomalías de la queratinización, como ictiosis, hiperqueratosis (1) y acné (2). No obstante el uso de los AHAs se ha extendido considerablemente en los últimos años debido a que el tratamiento con dichos ácidos, particularmente el ácido glicólico, promueve la reducción de los signos del envejecimiento cutáneo (3). Estos beneficios se atribuyen a un incremento en la proliferación celular y la activación funcional de los fibroblastos en la síntesis de colágeno (4,5,6). Aunque cualitativamente los efectos clínicos están bien caracterizados, actualmente se intenta conocer los mecanismos de acción y efectos bioquímicos a largo plazo implicados. Se ha sugerido que intervalos de tratamiento largos, pueden conducir a una remodelación de la matriz extracelular en la epidermis e incluso la dermis, que se acompaña de un incremento en la cantidad de colágeno depositada y en el contenido de ácido hialurónico (7).

El objetivo del presente trabajo es aportar nuevos datos experimentales que permitan analizar si la presencia de AHAs puede modificar la permeabilidad de la piel. Para ello se ha estudiado "in vitro" la influencia de los ácidos láctico y glicólico en la difusión a través de epidermis humana de cuatro compuestos

utilizados como modelo de penetrantes de diferente lipofilia (log Poct -0.84 a 2.89).

### Materiales y Métodos

Los permeantes utilizados fueron, 5-fluorouracilo (5-FU), 2- feniletanol (2-FE), 4-fenilbutanol (4-FB) y 5-fenilpentanol (5-FP). Los compuestos se prepararon en solución saturada a pH 6.2. Se utilizó piel humana de la zona abdominal (mujeres de 38-48 años) procedente de correcciones quirúrgicas. Las piezas, a las que previamente se eliminó el exceso de tejido graso, se conservaron en congelador ( - 20 °C ) hasta su utilización en los ensayos (menos de dos meses). Se prepararon fragmentos de epidermis mediante la técnica de separación por calor descrita anteriormente (8). Los ensayos de difusión se llevaron a cabo en células de Franz. El área de difusión fue de 0.78 cm<sup>2</sup>. La solución de ensayo se dispone en el compartimento dador (2 ml); el compartimento receptor se llena con solución salina a pH 7,4 a la que se añade polisorbato 80 a concentración supramicelar (1%, m/m) con el fin de mantener condiciones de gradiente máximo para el permeante. La solución receptora se mantiene en agitación a lo largo del ensayo mediante un agitador magnético colocado en el interior del compartimento.

Las membranas epidérmicas se trataron previamente con 2 ml de una solución acuosa de ácido láctico o ácido glicólico (5%, m/m), respectivamente, durante 12 horas. A tiempo cero se depositaron 2 ml de solución saturada de los compuestos en cada célula y se tomaron muestras de 0.2 ml del compartimento receptor,

durante 34 horas. El volumen extraído se repone con la misma cantidad de solución receptora. La valoración de los compuestos en las muestras se llevó a cabo mediante CLAE. A partir de las cantidades acumuladas, en función del tiempo, en el compartimento receptor se calcularon los coeficientes de permeabilidad ( $K_p$ ,  $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$ ) en piel no tratada (control) y piel pretratada con ácido láctico y glicólico, mediante la ecuación propuesta por Scheuplein (9):

$$Q = K \cdot h \cdot C \cdot \left[ D \cdot \frac{t}{h^2} - \frac{1}{6} \right] \quad (\text{Ec.1})$$

donde  $Q(t)$  es la cantidad que atraviesa la membrana y alcanza la solución receptora a tiempo  $t$ ,  $A$  es el área de difusión,  $K$  es el coeficiente de reparto entre la membrana y el vehículo,  $h$  el espesor de la membrana,  $D$  es el coeficiente de difusión del permeante en la membrana y  $C$  la concentración. Los términos de la ecuación 1,  $K \cdot h$  y  $D/h^2$  se reemplazaron por  $P_1$  y  $P_2$ , respectivamente y se calcularon mediante un programa informático de regresión no lineal (Sigma Plot). A partir de dichos valores se calcularon los coeficientes de permeabilidad,  $K_p (=P_1 \cdot P_2)$ . Posteriormente se calculó el efecto promotor mediante la siguiente ecuación:

$$EP = \frac{K_p \text{ pretratamiento}}{K_p \text{ control}}$$

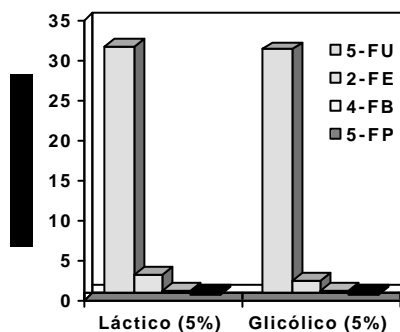
**Resultados y Discusión**

En la tabla 1 se indican los coeficientes de permeabilidad obtenidos en ausencia de AHA en la membrana (control) y después del tratamiento con los AHAs al 5% (m/m). Como puede observarse, el tratamiento de la membrana con ambos AHAs, incrementa el coeficiente de permeabilidad de los compuestos ensayados excepto en el caso del 5-fenilpentanol, cuya capacidad de penetración no se modifica significativamente en presencia de los AHAs.

**Tabla 1.** Coeficientes de permeabilidad medios ( $K_p \cdot 10^3$ ,  $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$ ) obtenidos para los compuestos ensayados

Compuesto	Control	Láctico 5%	Glicólico 5%
5-FU	0,074 (0,004)	2,343 (0,225)	2,320 (0,367)
2-f-etanol	46,60 (13,96)	152,42 (13,7)	122,57 (22,12)
4-f-butanol	78,49 (7,62)	101,92 (2,85)	102,56 (11,24)
5-f-pentanol	113,07 (14,43)	95,81 (14,18)	103,28 (14,33)

En la figura 1 se representa el efecto promotor desarrollado para los compuestos ensayados. Dicho efecto es muy marcado para el compuesto mas hidrófilo (5-FU) para el que su capacidad de penetración a través de la piel, en presencia de ácido láctico o de ácido glicólico, es aproximadamente, 30 veces superior a la que muestra cuando dichos ácidos no se encuentran presentes.



**Figura 1.** Efecto promotor observado, para los compuestos ensayados, como consecuencia del tratamiento de la epidermis humana con AHAs al 5%

**Bibliografía**

1. Van Scott E.J., Yu R.J. Hyperkeratinization, corneocyte cohesion and alpha hydroxy acids. J Am Acad Dermatol., 11: 867 (1984)
2. Atzori L, Brundu M.A., Orru A., Biggio P. Glycolic acid peeling in the treatment of acne. J Eur Acad Dermatol Venereol., 12: 119 (1999)

3. Ditre C.M.,Griffin T.D.,Murphy G.F., Sueki H., Telegan B., Jonson V.C.,Yu R.J., Van-Scott E.J. Effects of alpha hydroxyacids on photoaged skin: a pilot clinical, histologic and ultrastructural study. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 34: 187 (1996)
4. Kim SJ, Park JH, Kim DH, Won YH, Maibach HI. Increased in vivo collagen synthesis and in vitro cell proliferative effect of glycolic acid. *Dermatol Surg.*, 24: 1054 (1998)
5. Kim SJ, Won YH. The effect of glycolic acid on cultured human skin fibroblasts: cell proliferative effect and increased collagen synthesis. *J Dermatol.*, 25: 85 (1998)
6. Sams RL, Couch LH, Miller BJ, Okerberg CV, Warbritton A, Wamer WJ, Beer JZ, Howard PC. Basal cell proliferation in female SKH-1 mice treated with alpha and beta – hydroxyacids. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 15: 76 (2001)
7. Bernstein EF, Lee J, Brown DB, Yu R, Van Scott E. Glycolic acid treatment increases type I collagen mRNA and hyaluronic acid content of human skin. *Dermatol Surg.*, 27: 429 (2001)
8. Scott, R.C. Percutaneous absorption: in vivo/ in vitro comparisons. *Pharmacol. Skin.*,1: 103 (1987)
9. Scheuplein R.J., Mechanisms of percutaneous absorption II. Transient diffusion and the relative importance of various routes of skin penetration. *J. Invest. Dermatol.*, 48: 79 (1967).

**Autor de contacto:**

*Marina Herráez Domínguez*

*e-mail: **Marina. Herreraez@uv.es***

*Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica*

*Avd Vte Andres Estellés s/n*

*Burjassot (Valencia)*

*Telf.:96-3544296*

*Fax:96-3544911*