



No 116
251

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**AVANCES EN EL USO DEL COLAGENO
Y SU APLICACION EN SHAMPOO**

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P r e s e n t a :
ROSA MARIA PALMA RODRIGUEZ

México, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

CAPITULO I

--INTRODUCCION.

1

CAPITULO II. ANTECEDENTES

--PROTEINAS

2

--PIEL

5

--TEJIDO CONJUNTIVO

11

CAPITULO III

--COLAGENO

14

--COMPOSICION

21

--SECUENCIA

25

--AISLAMIENTO Y PURIFICACION

27

--ANALISIS Y CONTROL DE CALIDAD

29

--BIOSINTESIS

33

--TIPOS

36

--COLAGENASA

38

CAPITULO IV

--ESTRUCTURA

40

CAPITULO V

--PROPIEDADES COSMETICAS

47

CAPITULO VI

--EL COLAGENO EN EL CABELLO

51

CAPITULO VII

--APLICACION EN COSMETOLOGIA	58
--PROPIEDADES DE COLAGENOS COMERCIALES	59
--OTRAS APLICACIONES	68

CAPITULO VIII

--PARTE EXPERIMENTAL	70
----------------------	----

CAPITULO IX

--CONCLUSIONES	74
----------------	----

CAPITULO X

--BIBLIOGRAFIA	75
----------------	----

CAPITULO I

INTRODUCCION

Durante años recientes el interés del colágeno en productos cosméticos ha aumentado, dando lugar a la innovación y expansión de ellos, buscando retardar lo más posible las señales del envejecimiento.

El consumidor busca una piel con apariencia juvenil, limpia, humectada, suave y virtualmente libre de líneas de expresión y los cosméticos que contienen colágeno parecen cubrir tales requerimientos.

Esta tesis tiene como objetivo, mostrar el amplio y extenso uso del colágeno en formulaciones cosméticas, tanto para la piel como para el cabello y apoyar su intervención dentro del proceso del envejecimiento con los estudios llevados a cabo en la actualidad. El conocimiento de las características y propiedades del colágeno permite el desarrollo, cada vez más común de productos cosméticos tanto para hombre o mujer y en diversas formas de presentación que ayuden y mantengan la apariencia personal y la imagen del consumidor logrando que las personas se sientan satisfechas consigo mismas.

Los hidrolizados de colágeno plantean, en primer término, la interrogante respecto a su absorción y penetración, además de una uniformidad de criterio en cuanto al Control de Calidad, mostrando nuevas perspectivas en la creación de productos, especialmente para hombre, con lo cual se lograría abordar un terreno poco explotado.

El conocimiento de la piel y la acción del colágeno sobre ella requiere de más estudios e investigaciones para lograr óptimos resultados.

CAPITULO II. ANTECEDENTES

PROTEINAS

Son constituyentes esenciales y universales de las células, es la única fuente a partir de la cual el hombre reemplaza el nitrógeno perdido y la forma en que introduce azufre al organismo. (116). La palabra Protos significa primero, pues son el principal componente de los tejidos animales, siendo el 75% de la materia seca. (86).

Se componen de carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, algunos poseen además azufre y fósforo. Los aminoácidos son las unidades estructurales básicas de las proteínas y solo los del tipo L, las constituyen.

Las funciones de las proteínas son las siguientes:

1. Catálisis enzimática
2. Transporte y almacenamiento de iones y moléculas
3. Movimiento coordinado
4. Soporte mecánico
5. Protección inmune
6. Generación y transmisión de impulsos nerviosos.
7. Control del crecimiento y diferenciación.

Las fuerzas que definen la estructura de una proteína son: enlace covalente, enlace covalente coordinado, fuerzas iónicas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y de London, interacciones hidrófobas y repulsión electrostática. (110).

Los niveles de estructura de las proteínas se pueden considerar de la siguiente forma:

- Primaria es la secuencia de aminoácidos y la localización de enlaces disulfuro covalentes.
- Secundaria son las relaciones estéricas de los residuos de aminoácidos que están próximos uno al otro en la secuencia lineal. Ejemplo: hélice y enrollamiento.
- Terciaria son las relaciones estéricas de los residuos de aminoácidos que están distanciados en la secuencia lineal.
- Cuaternaria es la forma en que las cadenas están empaquetadas entre sí.

Las proteínas tienen un grupo amínico libre al final de la macromolécula y un grupo carboxílico libre en el otro extremo. (77, 109). Para cada proteína existen 2 puntos específicos y de vital importancia:

A. El Punto Isoiónico (PI) es el pH de la proteína en agua destilada o en otra solución, en el cual no produce iones hidrógeno (H^+) o iones hidróxido (OH^-), cuando se disuelve en agua sola. Es una medida que asegura la remoción de todos los iones coloidales.

B. El Punto Isoeléctrico (PIE) es el pH al cual una proteína en una solución amortiguadora no presenta migración neta al aplicarle un campo eléctrico.

Ambos dependen de la fuerza iónica del soluto y de la concentración de la proteína. (40).

Las proteínas se clasifican en Simples que contienen sólo L-aminoácidos o sus derivados (como: albúminas, globulinas, glutelinas, protaminas, albuminoides e histonas) y Conjugadas que contienen además sustancias NO proteínicas o grupo prostético (como: nucleoproteínas, glucoproteínas, fosfoproteínas, cromoproteínas, lipoproteínas etc.). (112).

También se pueden dividir dependiendo de la forma en que contribuyen a las actividades de la materia viva como: de reserva, con papel estructural o mecánico y las que actúan por unión a otras moléculas. (95).

Otra clasificación se da en base a su estructura tridimensional siendo: Fibrosas que son insoluble en agua y resistentes a la digestión por enzimas proteolíticas; son moléculas alargadas y la cadena polipeptídica no es única sino un agregado de 2 o más cadenas en una conformación laminar o helicoidal como el colágeno. Y las proteínas globulares que son solubles en agua y solución salina, de forma esférica o elipsoidal con una o varias subunidades polipeptídicas como enzimas u hormonas. (86, 94, 110).

LA PIEL.

Es una barrera activa que sirve de mediador entre el organismo y el medio ambiente, es de las unidades más importantes del cuerpo. El área cutánea de una persona adulta de 70 kg y 1.70 m es de 1.85 m², el volumen calculado con un espesor medio de 2.2 mm es de 4 l y el peso, considerando su gravedad específica algo superior al agua, es de 4.2 kg siendo este peso aproximadamente el 6 % del corporal.

La cantidad de sangre que contienen los vasos cutáneos llega a 1.8 l, es decir, 30% de la sangre circulante por eso es el órgano de mayor peso y volumen. (99, 100, 106).

El flujo sanguíneo de la piel a temperatura ambiente y en reposo es de 278 ml/m² de superficie corporal en 1 minuto, y la temperatura de la piel depende de la velocidad del flujo sanguíneo, la temperatura de la sangre, la velocidad de evaporación del sudor, la actividad, la humedad, el movimiento y la presión atmosférica. (82).

Las funciones de la piel son las siguientes:

- A. Regulación de la temperatura dentro de ciertos límites independientes de las fluctuaciones atmosféricas.
- B. Regulación del pH de la superficie.
- C. Regulación del crecimiento de la flora bacteriana y micótica superficial (capacidad autoesterilizadora) para protección.
- D. Regulación del pasaje del agua a través de la piel.
- E. Mantenimiento de la resistencia, plasticidad y suavidad de la superficie.

- F. Protección del medio interno por la relativa impenetrabilidad de afecciones mecánicas y químicas (acción defensiva).
- G. Eliminación de sustancias por la secreción de glándulas sudoríparas y sebáceas, formación y desprendimiento de caspa y *perspiratio insensibilis* (segregación de agua insensiblemente).
- H. Estética como órgano de presentación y apariencia.
- I. Información y percepción sensorial de estímulos (dolor, frío, calor, sensaciones etc.).
- J. Absorción y adsorción de sustancias.

La piel está formada por 3 capas que son las siguientes:

1. Epidermis o capa superior tiene varias capas celulares, cuyo contenido de agua aumenta hacia el interior, posee un espesor promedio de 0.2 mm, es avascular y continuamente está en vías de renovación, tiene terminaciones nerviosas y células pigmentarias; deriva del ectodermo y carece de vasos sanguíneos. La capa más externa es de células muertas y rica en anhídrido carbónico y vapor de agua (10 a 25%) y en las capas de células vivas tiene el 70% de agua, 2% de proteínas, 2% de lípidos y 0.5% de minerales.

Está cubierta de una sustancia ácida (procedente de las glándulas sebáceas y de los ácidos remanentes del sudor) y grasa. Hay en ella 6 estratos diferentes que van de la superficie a la profundidad y muestran estados diferentes de la vida de la célula y son:

- Estrato córneo.
- Estrato lúcido
- Estrato granuloso

-Estrato malpighiano

-Estrato basal o germinativo.

2. Dermis es una malla esponjosa que posee fibras de colágeno y elastina, vasos sanguíneos y linfáticos, nervios, glándulas y folículos pilosos.

Posee en menor grado fibras reticulares y tiene una sustancia fundamental amorfa. (6, 51). Proporciona nutrientes a la epidermis, su espesor es de 3 a 5 mm y su hidratación corresponde a la de un tejido vivo.

Tiene además fibroblastos, macrófagos, melanocitos etc. y se divide en:

- Dermis papilar

- Dermis subpapilar.

Una vez que la epidermis se ha removido, la dermis es completamente permeable lo cual se ha demostrado con los estudios de Sweeny, Pearce y Vance quienes han logrado separar los componentes de la piel. Su coeficiente de difusión es de 10^3 a 10^6 . (25, 80).

3. Hipodermis es una capa grasa que funciona como aislante térmico y absorbente mecánico de choques. Contiene plexos nerviosos y sanguíneos y tiene poca vascularización. (15, 45, 99, 100, 103).

De acuerdo a la cantidad de agua del estrato córneo es la aptitud de absorción. La piel contiene 3.40 m de nervios/cm², 70.86 m de vasos sanguíneos/dm² (15). y 2 500 000 glándulas sudoríparas en todo el cuerpo; también absorbe oxígeno molecular y desprende bióxido de carbono, siendo la respiración cutánea 100 veces más intensa que la pulmonar. (18, 117).

El Factor Natural de Humedad explica el mecanismo de retención de agua en la piel; en su ausencia, la piel no puede mantener el agua suficiente y se vuelve seca. No hay cambios significativos de este factor con la edad y el sexo, lo cual se concluyó con estudios de espectroscopia infrarroja, también se apreció que una barrera oclusiva puede mejorar la humedad, aunque la técnica aún debe ser mejorada. (26, 64).

El Factor Respiratorio del Tejido estimula la utilización de oxígeno molecular por los fibroblastos y aumenta la síntesis de colágeno.

La frecuencia de resonancia de la piel disminuye conforme aumenta la hidratación. (6, 38).

PASO DE SUSTANCIAS A TRAVES DE LA PIEL:

La Penetración es la entrada de un medio en la piel, extendiéndose a todas las capas cutáneas, mientras que la Resorción es el paso de la sustancia por la epidermis con absorción de los vasos sanguíneos o las glándulas. Actualmente se han definido 3 términos importantes:

- Sustainividad que es la capacidad de una sustancia para ser absorbida por una superficie.
- Adsorción si la sorción es sólo en la superficie.
- Absorción si la sustancia penetra la superficie.

La adsorción es de superficie y si la difusión toma parte ocurre la absorción. La difusión pasiva del estrato córneo se relaciona con el coeficiente de distribución octanol/agua. (25, 42, 67, 72, 99).

Los factores que intervienen en el paso de una sustancia a través de la piel son: el estado de la piel (la hidratación aumenta la penetración y la piel alterada permite la absorción), topografía de la zona, concentración de la sustancia activa, forma de aplicación (el masaje, fricción o maceración de la piel aumentan la absorción), vehículo usado y tiempo de permanencia. (37, 80, 106, 107, 133).

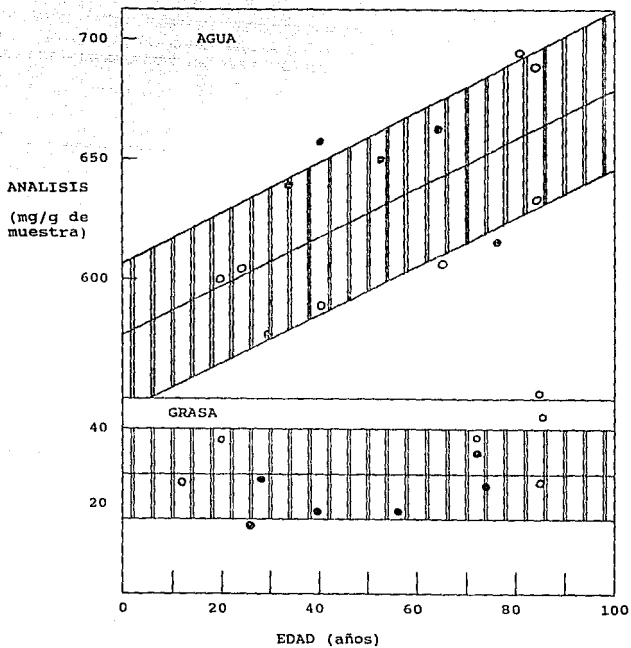
ENVEJECIMIENTO DE LA PIEL:

La epidermis (sobretudo la de la cara y el cuello) se degrada progresivamente perdiendo su frescura y elasticidad, se arruga y pierde firmeza. Uno de los factores del envejecimiento se sitúa al nivel del Tejido Conjuntivo debido a la modificación química y al acomodo de las moléculas del colágeno. La transformación y degradación del colágeno juega un papel muy importante en el envejecimiento, debido a que el colágeno soluble disminuye con la edad pasando a colágeno insoluble.

A escala molecular las fibras de colágeno durante la infancia y adolescencia están paralelas entre sí y libres de moverse porque no están enlazadas cruzadamente (colágeno soluble), pero con el tiempo la exposición excesiva a la radiación ultravioleta o los rayos solares, una nueva red de moléculas se entretrejen entre las cadenas libres originales (colágeno insoluble), así que el colágeno ya no tiene la misma afinidad por el agua y no es capaz de mantener el mismo grado de hidratación profunda, lo que lleva a una piel seca, sin tonicidad, rígida e inelástica. (5, 6, 8, 12, 19, 27, 38, 105).

Con la edad, la cantidad total de grasa permanece constante, igual que los lípidos, la elastina aumenta ligeramente, la secreción sebácea disminuye y la secreción de sudor permanece igual. Hay deficiencia en el Factor Natural de Humedad, se retarda el valor de crecimiento del cabello, hay calvicie y pérdida de brillo, menor volumen de sangre circundante y puede presentarse aumento en el contenido de calcio. (25, 26, 36, 51).

El envejecimiento puede deberse a factores como edad, herencia, hábitos de vida etc. Las manifestaciones clínicas del envejecimiento están representadas por: Atrofia Cutánea (piel delgada y seca, casi transparente) y Arrugas (principal manifestación visual). (27, 31, 41, 66, 76). Por lo cual es necesario conocer lo mejor posible las alteraciones morfológicas de la piel seca y poder así atender, prevenir y tratar exitosamente sus cambios. (26).



Contenido de agua y grasa de dermis normal de hombres (●) y mujeres (o), en diversas edades.

Fig. II. 1.

TEJIDO CONJUNTIVO.

Conecta y une otros tejidos para dar así la forma corporal y da los medios para que los elementos nutritivos pasen de los capilares en las sustancias intercelulares a las células de los tejidos. Se coloca entre la epidermis y el músculo; se encuentra en todo el cuerpo (cartilago, tendón, ligamento, matriz del hueso, pelvis del riñón, ureter, uretra, etc.). Sirve como enlazante de los vasos sanguíneos y da la sustancia de unión en órganos parenquimatosos como hígado y músculo. Las funciones que tiene son: sostener, almacenar, proteger y reparar. (5, 86, 97, 104).

Posee tres componentes principales que son:

1. Células Especializadas que comprenden fibroblastos (responsables de la producción de fibras de colágeno y mucopolisacáridos ácidos), células cebadas (que almacenan y sintetizan heparina), células adiposas, macrófagos, linfocitos, etc.
2. Sustancia fundamental amorfa es una mezcla compleja que contiene agua, proteínas y mucopolisacáridos o glucosaminoglucanos, transita entre las células y la circulación. Sirve de lubricante del sistema del colágeno; los mucopolisacáridos son 70% ácido hialurónico y 30% sulfato de condroitina, es una estructura gelatinosa que mantiene a las células unidas y es una barrera que evita la pérdida demasiado rápida del agua y el material disuelto en ella.
3. Fibras de colágeno que se forman de finas fibrillas, son blancas y onduladas, fibras elásticas resistentes, son hebras delgadas, amarillas y por último fibras reticulares son redes o mallas delicadas y presentan todas las propiedades del colágeno, por lo que se consideran una variante de éste. (36, 41, 84, 97, 112, 116).

Es un tejido blando, plegable y elástico, a demás contiene varios iones inorgánicos como Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , K^+ , O_2 , etc. y se considera el órgano blanco de hormonas porque el metabolismo del colágeno y los mucopolisacáridos son afectados por ellas y al declinar el sistema endocrino se altera. (45, 51, 104).

El tejido conjuntivo aparece en el embrión o en el feto y se conoce como mesénquima, posteriormente constituye un tejido que se presenta sin cambios después del nacimiento, y del cual derivan todos los tejidos conjuntivos. (96).

COMPOSICION DE TEJIDOS

TABLA II.1

COMPONENTE	FIBROSO BLANCO (TENDON)	ELASTICO AMARILLO (LIGAMENTO)
AGUA	62.9	57.6
SUSTANCIA INORGANICA	0.5	0.5
SUSTANCIA ORGANICA	36.6	41.9
LIPIDOS	1.0	1.1
PROTEINA COAGULABLE	0.2	0.6
MUCOIDE	1.3	0.5
ELASTINA	1.6	31.7
COLAGENO	31.6	7.2
OTROS	0.9	0.8

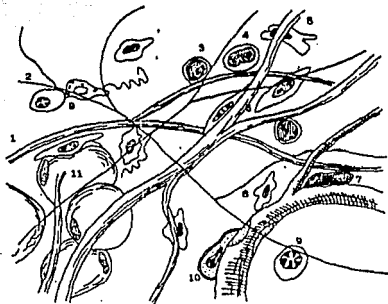


Diagrama de una sección transversal subcutánea del tejido conjuntivo. (1) Fibras de Colágeno. (2) Fibras de Elastina. (3) Linfocitos. (4) Monocitos. (5) Macrófago. (6) Fibroblastos. (7) Células de Sostén. (8) Células Mesenquimas. (9) Células Plasmáticas. (10) Vasos Capilares. (11) Células Grasas.

Fig. II. 2

CAPITULO III.

COLAGENO.

El colágeno es una de las proteínas más abundante en el cuerpo humano y animal, es el elemento constitutivo principal de la piel y se encuentra en huesos, tendones, cartilago, diente etc. y en una fina red de fibras en órganos internos. Es una proteína fibrosa que mantiene las células unidas, su papel es estructural en el tejido maduro y dirigente en el desarrollo tisular, es la proteína más larga que se conoce. Etimológicamente la palabra colágeno proviene de los términos *kolla* (goma) y *egenomen* (producir). (6, 29, 75, 77, 79, 84).

Se encuentra en especies representativas de todo animal del género *Phyla*, excepto en el *Protozoa*, (90). su abundancia en la tierra se estima de dos trillones de libras, es insoluble en agua fría, ácidos diluidos, soluciones salinas y ciertos disolventes orgánicos, pero con el agua caliente se transforma a gelatina. (94, 103).

Las fibras de colágeno frescas son de color blanco y si están presentes en gran cantidad en la carne, la hacen dura, son flexibles pero resisten el estiramiento y su resistencia a la tensión es comparable al acero, se necesita una carga de al menos 10 kg para romper una fibra de 1 mm de diámetro y no se contrae cuando se aplica una fuerza de 10 000 veces su propio peso. Esta cierta inelasticidad permite a las fibras de los tendones transferir contracciones musculares, a través de las articulaciones, de modo que puedan realizar movimientos precisos. (97, 104, 109, 116).

Las fibras son birrefringentes con luz polarizada, lo que sugiere un ordenamiento de subestructuras asimétricas, se impregnan débilmente con sales de plata. Los metales pesados decoloran las fibras y acentúan sus bandas características, que se deben a regiones de alta densidad electrónica, ya sea por una concentración de átomos de poder de dispersión alto o por un mayor espesor de la proteína o ambos.

Es incoloro en estado fresco y es difícil distinguirlos en preparaciones histológicas, a menos que se coloree. Las tinciones histológicas típicas del colágeno son: (51, 97)

TABLA III.1

AGENTES	COLORACION
Acido pícrico, fucsina ácida y hematoxilina. (Tinción de Van Gieson)	rojo rosado
Fucsina ácida, anilina azul, naranja G y ácido fosfomolibdico. (Método del tricromo de Mallory).	azul
Eosina	rosado
Fucsina ácida.	rojo
Azul de anilina.	azul

Es afectado por enzimas proteolíticas, reacciona con la carragenina para formar geles suaves, en lo que se refiere a la relación carga-extensión es lineal sin que en alguna región ocurra una extensión rápida, los paquetes secos de fibra de colágeno son similares en fuerza a la seda y al algodón. (62, 68, 81, 101).

El acomodo de las fibras es muy variado dependiendo del tejido en la piel y en el tendón son haces de fibrillas paralelas y en heridas cicatrizadas están dispuestas al azar; en la córnea y en el humor vítreo son una fina lámina que permiten el paso de luz. (86). En el modelo de difracción de rayos X, se aprecia un ángulo mayor que forman los paquetes fibrilares de colágeno y un ángulo menor dependiendo del tejido. (29, 90, 101).

Las 2 propiedades físicas más importantes del colágeno son su comportamiento de hinchamiento y su habilidad para contraerse. El colágeno se hincha por acción de ácidos y bases diluidos y fríos; si el proceso dura mucho entonces la temperatura aumenta y ocasiona hidrólisis. El hinchamiento provoca un acortamiento de la fibra y por consiguiente un ensanchamiento de la red cristalina, dicha propiedad se atribuye a sus grupos polares y se relaciona con la irritación de la piel. (46, 79, 87).

Las fibras de colágeno, al calentarse en medio acuoso, muestran una reducción a cierta temperatura que depende del medio fisicoquímico y el tipo de colágeno, además de variar de especie a especie.

TABLA III.2

ORIGEN DEL COLAGENO SOLUBLE	TEMPERATURA DE CONTRACCION (°C)
mamíferos	62 - 64
piel de pescado	40 - 42
piel de becerro	64
bacalao	44

Al contraerse pierde 2/3 de su longitud original, se vuelve transparente y adquiere la elasticidad del caucho; recupera su ordenación si se somete a estiramiento y si el proceso de calentamiento no ha sido drástico (arriba de la temperatura de contracción). La contracción es repentina en un rango de 2 a 3 °C, sirve como índice de la estabilidad hidrotérmica y se debe al alto enrollamiento de las cadenas polipeptídicas siendo una reacción de primer orden, donde la energía de activación es de 141 kcal/mol.

El cloruro de calcio y el tiocianato de potasio disminuyen la temperatura de contracción y si se usan en concentración adecuada, ésta puede ocurrir a temperatura ambiente o baja. El curtido de la piel ayuda a que el colágeno se hinche menos y aumente su temperatura de contracción, dando mayor fuerza a las fibras y menor solubilidad alcalina; además con la edad aumenta dicha temperatura. (45, 87, 90, 98, 101).

En las curvas de titulación del colágeno por técnicas electromecánicas convencionales, se aprecia que sus grupos funcionales pueden reaccionar con ácidos grasos y bases en medio acuoso; se usa sal para reducir la diferencia de potencial entre la proteína y la solución. (101).

Cambios en las propiedades mecánicas en el tracto reproductivo de la hembra en mamíferos, tienen lugar en el embarazo y el alumbramiento, ocurriendo cambios de tamaño también, que no se relacionan con la cantidad total de colágeno. Las alteraciones ocurren rápidamente, pues el aumento presentado en el embarazo se pierde 24 horas después del parto. (98).

El colágeno soluble es estable a temperatura ambiente o menor, aunque en refrigeración sufre daño que puede ser detectado por cromatografía de líquidos de alta resolución; mientras que a altas temperaturas se desnaturaliza (pierde la estructura de triple espiral), se convierte en gelatina, disminuye su viscosidad y la rotación óptica. La temperatura de desnaturalización (T_d) es la temperatura en la cual, la viscosidad intrínseca disminuye a la mitad de su valor original después de 30 minutos. (8, 23, 29, 75).

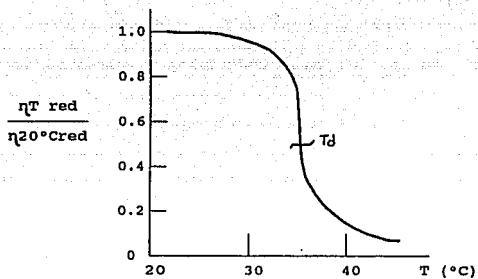
TABLA III.3

PROPIEDAD	COLAGENO SOLUBLE	GELATINA
ROTACION OPTICA (α) _D ²⁵	-380° a -408°	- 120°
VISCOSIDAD INTRINSECA (η)	9 - 15 dl/g	0.3 dl/g
T_d	31 - 36°C	-

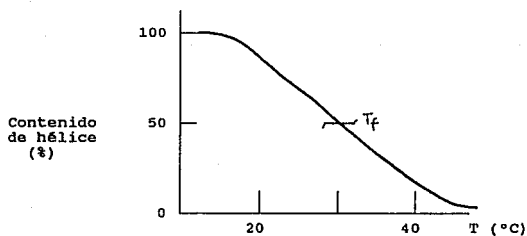
La temperatura de desnaturalización también es influenciada por el pH, como se muestra en la siguiente tabla:

TABLA III.4

pH	T_d (°C)
3.0 - 3.8	30 - 32
5.0 - 7.5	35 - 36



T_d = temperatura de desnaturalización.
 GRAFICA DE VISCOSIDAD vs. TEMPERATURA.



T_f = temperatura de fusión.
 CURVA DE FUSION DEL COLAGENO.

Fig. III. 1

La temperatura de fusión del colágeno (T_f) es el valor en donde se ha perdido la mitad de su estructura helicoidal; tanto la temperatura de fusión como la de contracción se relacionan con la temperatura corporal de la especie de procedencia y la diferencia entre ellas, es de alrededor de 27 °C. (8, 29, 49, 75, 98, 109).

TABLA III.5

DEPENDENCIA DE LA ESTABILIDAD TERMICA CON RESPECTO AL CONTENIDO DE IMINOACIDOS.

PROCEDENCIA	Pro e Hyp (residuos/1000)	TEMPERATURA (°C)		
		(T_c)	(T_f)	corporal
Piel de becerro (sangre caliente)	232	65	39	37
Piel de tiburón	191	53	29	24-28
Piel de bacalao (sangre fría)	155	40	15	10-14

La remoción de las glándulas pituitaria y tiroides, retardan el envejecimiento en el tendón de cola de rata, ya que disminuye el consumo de oxígeno. (45, 51). El efecto hormonal sobre el metabolismo del colágeno es el siguiente:

TABLA III.6

HORMONA	COLAGENO	
	SINTESIS	DESCOMPOSICION
Adrencorticotrofina	disminuye	se mantiene
Paratiroides	se mantiene	aumenta
del crecimiento	aumenta	se mantiene
Testosterona	aumenta	---

PRUEBAS BIOLÓGICAS.

- Inmunogenicidad

El colágeno es no inmunogénico, no estimula la producción de anticuerpos y la razón de esto parece deberse a que los colágenos de diferentes especies, son muy similares por lo que el sistema inmune no lo detecta como agente extraño. La alergia proteínica nunca ha sido observada.

- Dosis Letal 50 por vía oral

En la rata es mayor de 20 ml/kg durante 7 días y en ratón es mayor de 40 ml/kg por el mismo período.

- Irritación primaria en piel humana

No hay ninguna indicación de incompatibilidad con la piel en el sentido de un efecto tóxico primario.

- Irritación primaria en piel de conejo e Irritación Ocular

El colágeno no causa irritación

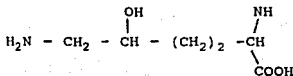
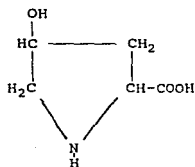
- Sensibilización en el conejillo de Indias

No hay ninguna provocación de hipersensibilidad al contacto. (4, 19, 60, 77).

El apoyo en estas pruebas permite el uso del colágeno con plena confianza en productos y artículos cosméticos, pues es una materia prima que no causará daño al consumidor y en cambio, le dará plena satisfacción por sus múltiples propiedades.

COMPOSICION DE AMINOACIDOS DEL COLAGENO.

El colágeno tiene 2 aminoácidos específicos que son la hidroxiprolina (Hyp) e hidroxilisina (Hyl), que se forman a partir de la prolina y la lisina por medio de una enzima específica, sus estructuras son:



Hidroxiprolina

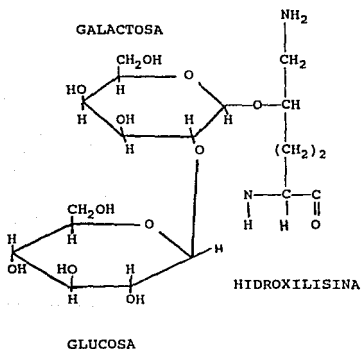
Hidroxilisina

Contiene alrededor del 13 % de hidroxiprolina y 15 % de prolina y esos dos aminoácidos componen 1/5 de todos los residuos en cada cadena polipeptídica, mientras que la glicina ocupa 1/3 de todos los residuos; debido a que la molécula es pequeña y compacta pudiendo situarse y permitiendo que los filamentos queden juntos.

Así los 2 residuos de aminoácido a cada lado de la glicina, quedan situados en el exterior de la fibra, donde los anillos voluminosos de la prolina e hidroxiprolina pueden situarse. (75, 98, 100, 109). El triptófano esta ausente y hay bajo contenido de tirosina, leucina e isoleucina. Carece de cistina y si aparece se debe a la contaminación de pequeñas cantidades de queratina.

Presenta también alto contenido de grupos polares, debido a los aminoácidos bifuncionales; cada aminoácido se va repitiendo según su abundancia en la cadena proteínica, siendo 8 moles de glicina, 4 moles de monoácido, 4 moles de prolina, 2 moles de hidroxiprolina y 1 mol de arginina o lisina. (8, 79, 87, 101, 110).

Hay carbohidratos asociados al colágeno en relación de 1 molécula de cada azúcar (generalmente un disacárido de glucosa y galactosa), por cada 2 moléculas de colágeno.



El procólágeno no tiene tirosina, mientras que el tropocolágeno es rico en glicina, 5 y 4-hidroxiprolina. (75, 86, 101). El análisis de la cutícula de lombriz de tierra, de los filamentos ejecutores de cohombro de mar y del *Mytilus edulis* representan información de la composición química del colágeno en invertebrados: no presentan periodicidad a 640 Å°, tienen contenido bajo de nitrógeno total (en los vertebrados es de alrededor de 99.8 %), poseen altas cantidades de polisacáridos, alta liberación de hexosas y pequeña cantidad de pentosas y hexosaminas; en ellos no hay correlación entre la estabilidad fibrilar (Temperatura de contracción) y el contenido de hidroxiprolina, además el enlace de hidrógeno parece tener un efecto estabilizante mayor. (98).

TABLA III.7

COMPOSICION DE AMINOACIDOS DE COLAGENOS SOLUBLES PURIFICADOS.
Resultados expresados como residuos de aminoácidos/1000 residuos.

AMINOACIDOS	CANTIDAD DE AMINOACIDOS EN		
	HUESOS DE TERNERA	PIEL DE BECERRO	GRANULOMA NUCLEAR DE COBAYO
Alanina	107.3	99.2	100.7
Glicina	310.3	321.2	324.0
Valina	22.9	26.0	20.5
Leucina	25.6	29.3	25.5
Isoleucina	11.9	13.0	11.8
Prolina	144.8	120.3	115.6
Fenilalanina	10.7	16.3	12.4
Tirosina	1.8	3.3	3.2
Serina	28.30	32.5	44.1
Treonina	15.2	21.2	20.2
Metionina	3.9	4.9	8.3
Arginina	46.5	52.0	51.6
Histidina	4.6	6.5	6.2
Lisina	27.7	27.6	25.8
Ac. aspártico	44.1	43.9	48.3
Ac. glutámico	75.4	86.1	68.3
Hidroxiprolina	105.8	95.9	104.4
Hidroxilisina	8.3	9.8	8.8
Total	995.3	999.9	999.7

TABLA III.8
 COMPOSICION DE COLAGENOS DE INVERTEBRADOS.
 Valores como g de aminoácidos / 100 g de espécimen.

Aminoácido	Cutícula lombriz		Filamentos		Espongina		Corneína
	umbri-cus	Allolo-bophora longa	Hote-thu-ria fors-kali	Myti-lus edu-lis	A	B	
Glicina	25.00	30.80	20.40	17.20	19.10	25.30	20.50
Alanina	8.31	6.80	6.92	11.30			
Leucina	2.73		2.47	2.10			
Isoleucina	1.42	2.80	1.59	1.50			
Valina	1.77		2.43	4.60			
Fenilalani-na	1.11	2.90	1.07				3.40
Tirosina		0.80		5.00	0.40	0.30	7.10
Serina	8.50	8.40	4.60	5.30			
Treonina	5.00	4.40	4.70	4.80			
Metionina			0.59	0.40			
Prolina	1.17	3.10	5.18	5.10	5.60	5.10	
Hidroxipro-lina	12.80	14.60	3.01		6.80	8.10	
Lisina	2.58	2.80	3.21				4.50
Acido. Aspártico	4.95	4.40	5.56	4.60			
Acido Glutámico	6.63	7.80	7.30	5.30			
Amida	8.21		6.22				
Cistina			0.14				7.40
Arginina	7.04		14.90	11.80			10.30
Histidina	0.19		2.99				1.70
Hidroxillis-ina			0.47				

SECUENCIA DE AMINOACIDOS DEL COLAGENO.

La secuencia en el colágeno es un tanto repetitiva, la glicina se encuentra en casi toda la tercera posición y los segmentos tripeptídicos de Glicina-X-Prolina; Glicina-X-Hidroxiprolina y Glicina-Prolina-Hidroxiprolina son muy comunes. Así el patrón - 1 - 2 - Glicina (3). se propone como un requerimiento absoluto, para la formación de la triple hélice.

En general por cada 24 aminoácidos que se tengan, cada tercero es glicina, cada sexto prolina, cada doceavo hidroxiprolina y cada veinticuatro lisina o arginina. Además la secuencia sugiere que la hidroxiprolina esta siempre seguida de la glicina y la proporción molar prolina + hidroxiprolina: glicina: otro aminoácido es 2: 3: 4. (75, 79 84, 87, 94, 98, 101, 104).

A continuación se presenta, la secuencia del colágeno en un fragmento de piel de rata: (88, 109).

				G	p'	M	G ²⁰	p'	S	G	p'	R ²⁵		
G	L	P	G	p'	P	G	A	P	G ³⁵	p'	Q	G	F	Q ⁴⁰
G	p'	P	G	E ⁴⁵	P	G	E	P	G ⁵⁰	A	S	G	p'	M ⁵⁵
G	p'	R	G	p'	P	G	p'	P	G ⁶⁵	k'	N	G	D	D ⁷⁰
G	Q	A	G	k' ⁷⁵	p'	G	R	P	G ⁸⁰	E	R	G	p'	P ⁸⁵
G	p'	Q	G	A ⁹⁰	R	G	L	P	G ⁹⁵	T	A	G	L	p ¹⁰⁰
G	M	K	G	H ¹⁰⁵	R	G	F	S						

Abreviaciones: G glicina, Q glutamina, N asparagina, D ácido aspártico, L leucina, p' prolina, M metionina, P hidroxiprolina, T treonina, R arginina, A alanina, k' lisina, K hidroxilisina, H histidina, S serina, E ácido glutámico y F fenilalanina.

TABLA III.9

POSICIONES POSIBLES DE LOS EXTREMOS DE LAS CADENAS.

POSICION	COLAGENO I		COLAGENO II
	NO DEFORMADO	DEFORMADO	
1	Unicamente glicina	Pueden estar otros residuos pero imposible prolina e hidroxiprolina	Debe ser glicina
2	Algún residuo incluso prolina e hidroxiprolina	Algún residuo incluso prolina e hidroxiprolina	Algún residuo incluso prolina e hidroxiprolina
3	Unicamente glicina	Algún residuo incluso prolina e hidroxiprolina excepto valina	Algún residuo incluso prolina e hidroxiprolina
Enlace del OH de la hidroxiprolina en posición 3	—	Puede formarse a la cadena vecinal	Se presenta lejos de la estructura y no puede formarse dentro de las cadenas

AISLAMIENTO Y PURIFICACION DEL COLAGENO.

Obtener colágeno soluble del colágeno de la piel puede variar; de menos de 1 hasta alrededor del 10% si se usan sales neutras o soluciones alcalinas y más del 20%, si se lleva a cabo una extracción ácida. Debe notarse que al referirnos soluble a ácido o sales neutras, es relacionado a las condiciones de extracción y no indican que una fracción es únicamente soluble en este rango de pH.

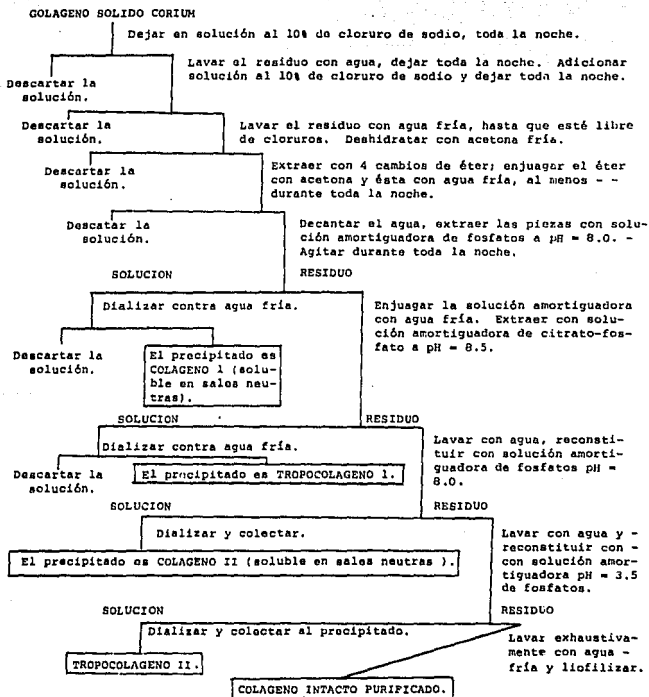
Los estudios han demostrado que el colágeno soluble en sales neutras y/o alcalinas es el precursor biológico de las fibras de colágeno insoluble y el colágeno soluble en ácido es una etapa intermedia. La actividad reside en la fracción soluble en sales neutras, aunque la fracción soluble en ácido es más activa que el colágeno insoluble. Comercialmente el colágeno soluble se obtiene por procesos alcalinos o enzimáticos, y la extracción ácida sólo se usa para propósitos de investigación, (8, 29). y aún más ácida para mejorar la producción.

El hidrolizado resultante tiene un punto isoelectrico mayor a 7 y las condiciones de degradación pueden ser controladas para obtener un producto con un rango óptimo de peso molecular (comúnmente de 500 a 2000) siendo además completamente soluble en agua, fácil de usar en formulaciones cosméticas y con posibilidad de penetrar a la piel. (77).

Para las cremas de colágeno no es posible sugerir un método universal aplicable para la extracción del colágeno soluble activo, pero el siguiente procedimiento da buenos resultados, si la concentración es del 0.1% o más: 30 g de crema se agitan con 200 ml de éter de petróleo y se extraen con un embudo de separación a una temperatura de 25°C o menos. Se deja 10 minutos y la fase inferior (acuosa) se transfiere a 20 ml de solución amortiguadora 0.2 M de citratos y pH=6.0, se filtra para eliminar el material insoluble y al filtrado se le realiza el ensayo de hidroxiprolina. Para la relación viscosidad/temperatura se debe usar una solución fresca. (8).

El diagrama de separación de las fracciones de colágenos solubles en ácido, base y sales neutras es el siguiente: (85).

Rendimiento: 95% a 100%.



ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD.

El colágeno contiene un aminoácido específico que es la hidroxiprolina, y el análisis de dicho aminoácido funciona como prueba sustancial para la calidad y también es recomendable como control. Aunque la gelatina, producto de la hidrólisis parcial del colágeno con agua hirviendo tiene el mismo contenido de hidroxiprolina, la estructura característica del colágeno es diferente y por ende disminuye la viscosidad y la rotación óptica, por lo cual debe hacerse una curva de viscosidad/temperatura.

Los métodos para la determinación de hidroxiprolina son:

1. Método de Neuman y Logan

- Desintegración: Se coloca 1 ml de colágeno y 1 ml de solución 6 N de ácido clorhídrico en un tubo, se cierra y se funde por 3 horas en autoclave (29.6 psig y 132°C).

- Determinación: Diluir 1 ml de la solución resultante con agua destilada (1:20); la concentración será de 7.5 μ g Hidroxiprolina/ml. Tomar 1 ml de la solución y agregar 1 ml de solución 0.01 M de sulfato cúprico y 1 ml de solución 2.5 N de hidróxido de sodio. Agitar vigorosamente, adicionar 1 ml de solución al 6% de peróxido de hidrógeno, volver a agitar vigorosamente. Agregar 0.1 ml de solución 0.05 M de sulfato ferroso y agitar en vortex hasta que no haya burbujas de gas. Adicionar con agitación 4 ml de solución 3 N de ácido sulfúrico y 2 ml de solución al 5% de p-dimetilaminobenzaldehído en propanol. Mezclar con una varilla de vidrio y calentar en baño de agua con agitación constante durante 16 minutos a 70°C. Enfriar 5 minutos en baño de hielo y medir la absorbancia del color rojo resultante a una $\lambda = 540$ nm. El blanco es agua tratada igual.

- Curva de calibración usar Hidroxiprolina pura y seca. Solución stock pesar 100.0 mg de Hyp en un matraz de 100 ml aforar con agua destilada. Diluir la solución resultante 1:20, 1:10 y 1.5:10 con agua destilada (concentración 5 μ g, 10 μ g y 15 μ g).

-Nota: puede fundirse el colágeno sin usar el autoclave, llevando a 103°C por 24 horas. La sensibilidad del método es de 5 a 15 mcg Hyp/ml. (8, 11, 55, 78).

2. Método de Cloramina T

-Solución amortiguadora: diluir 50 g de ácido cítrico, 12 ml de ácido acético glacial, 120 g de acetato de sodio trihidratado y 34 g de hidróxido de sodio en 1 l de agua. Verificar el pH y ajustar a 6.0 con gotas de una solución al 20 % de ácido acético. La solución debe guardarse en refrigeración y bajo una capa de tolueno de 1 cm de profundidad.

-Solución de Cloramina T: (recién preparada) mezclar 0.56 g de Cloramina T, 8 ml de agua destilada, 12 ml de propanol y 20 ml de solución amortiguadora (cuidando de no tomar el tolueno).

-Solución de p-dimetilaminobenzaldehído (DMABA): diluir 10 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 50 ml de una solución 3.15 M de ácido perclórico y disolver.

-Preparación de la muestra: lavar todo el material de vidrio con acetona, propanol y agua destilada y secar antes de usar. Pesar una cantidad de muestra que contenga 50 mg de Hidroxiprolina en un tubo de rosca de 20 ml agregar un volumen igual de ácido clorhídrico concentrado y llevar a 15 ml con una solución al 20 % de ácido clorhídrico. Cerrar el tubo y calentar a 110°C toda la noche, enfriar el tubo a temperatura ambiente y transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 250 ml, filtrando en un embudo de vidrio con lana y ayudándose con agua destilada. Llevar a volumen con agua destilada y mezclar.

-Estándar: pesar 100 mg de Hidroxiprolina en un matraz volumétrico de 50 ml, disolver con agua destilada, agregar 20 ml de una solución al 20% de ácido clorhídrico y aforar con agua destilada.

- Procedimiento: Después de diluir la muestra y el estándar (5.0 ml a 100 ml) y pipetear 1 ml de las soluciones en tubos de ensayo, adicionar:

A) 1 ml de solución de Cloramina T, mezclar en vortex. Dejar 4 minutos.

B) 2 ml de propanol, mezclar en vortex. Dejar 6 minutos.

- C) 1 ml de solución de p-dimetilaminobenzaldehído, mezclar en vortex y llevar a 60°C en baño maría por 20 minutos. Enfriar con chorro de agua.
- D) Adicionar 5 ml de propanol, mezclar en vortex y determinar la absorbancia a una $\lambda = 556 \text{ nm}$. (8).

En ambos métodos el ácido y el calentamiento son para hidrolizar, el peróxido de hidrógeno y la Cloramina T oxidan la hidroxiprolina a ácido pirrolinehidroxicarboxílico, es decir, una descarboxilación para obtener un pirrol. Posteriormente la reacción entre el pirrol y el reactivo de Ehrlich da un cromóforo que se mide espectrofotométricamente. (13).

Existe además un método cualitativo para verificar la sustantividad de la molécula, y es su reacción con la Rubina (colorante aniónico) que reacciona con un hidrolizado catiónico de colágeno, dando un color rosa-rojizo. (61).

Análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución y electroforesis con métodos de yodación (I^{127} y I^{125}), mostraron que la proteína sufre daño al ser tratada con los reactivos empleados por el método de la Cloramina T, por lo cual el rendimiento es muy bajo (50 a 66 %). (23).

Las presentaciones comerciales, actualmente son muchas y un análisis de calidad, es necesario porque pueden contener solamente proteínas desnaturalizadas o hidrolizados de colágeno. Los siguientes datos analíticos pueden ayudar a evaluar la calidad de una presentación de colágeno:

- Descripción o aspecto (color, olor, forma física etc.)
- Humedad, pH, cenizas, solubilidad, metales pesados etc.
- Contenido de hidroxiprolina.
- Análisis total de aminoácidos.

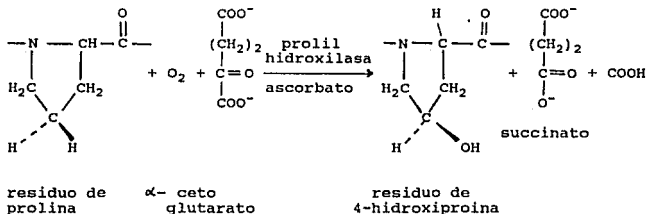
- Pruebas de identificación (las fibrillas precipitan al agregar una solución al 7 % de cloruro de sodio y por el método de Biuret producen un fuerte color.).
- Determinación de nitrógeno total.
- Absorción al ultravioleta (tienen un máximo a 257 nm).
- Determinación del peso molecular.
- Densidad relativa, sólidos totales, viscosidad, fierro etc.
- Análisis microbiológico de patógenos y no patógenos.

Es muy importante realizar las pruebas necesarias, debido a que se tiene información de que al hacer el análisis de 30 soluciones de colágeno en teoría iguales, los resultados mostraron que su contenido era muy diverso: colágeno desnaturalizado, colágeno hidrolizado o tropocolágeno nativo. Lo cual muestra lo importante que es conocer el contenido de tropocolágeno nativo que es el que se prefiere usar. (55).

BIOSINTESIS DEL COLAGENO.

El mecanismo propuesto para la biosíntesis del colágeno es el siguiente: el RNA mensajero de cada cadena pro- α sufre la transducción sobre los ribosomas unidos a la membrana (b), la hidroxilación de los residuos de prolina y lisina, comienza sobre las cadenas en formación. El ácido L-ascórbico es uno de los cofactores de las enzimas responsables de la hidroxilación, de residuos específicos lisil y prolil, actúa como agente reductor para mantener el hierro en forma ferrosa en la enzima.

La prolina puede hidrolizarse en C₄ sólo si está situada en el lado amínico de un residuo de glicina. El átomo de oxígeno que se une al C₂ de la prolina, viene del oxígeno molecular y el otro átomo también de oxígeno aparece en el succinato que se forma a partir del α -cetoglutarato:



Una pequeña porción de residuos de colágeno se hidrolizan en C₅, por acción de la lisis-hidroxilasa que también requiere de oxígeno molecular, α -cetoglutarato y ascorbato. El grupo hidroxilo de la hidroxiprolina facilita los puentes de hidrógeno y las uniones cruzadas dando así estabilidad a la triple hélice y la modificación de la lisina se necesita para la formación extracelular subsecuente de enlaces aldímico. (45, 86, 109).

Cuando ha finalizado la formación de las cadenas (b), éstas se liberan de los ribosomas y comienza el ensamblaje de las regiones helicoidales del tropocolágeno. Se piensa que esto inicia por la asociación de los dominios globulares, que aparecen desde el extremo amino terminal al carboxilo terminal. La hidrozilación finaliza cuando las moléculas de tropocolágeno (c) se ensamblan y comienza entonces la glucosilación (d).

Después de su secreción desde la célula, tanto el amino terminal como el carboxilo terminal son eliminados por la procolágeno peptidasa para dar así el tropocolágeno (e), que forma las fibrillas bajo la dirección de interacciones electrostáticas hidrofóbicas y por enlaces cruzados se obtiene el colágeno maduro (f). Siendo las etapas:

1. Conversión del grupo amino de la lisina en un aldehído por una reacción por la lisil-oxidasa.

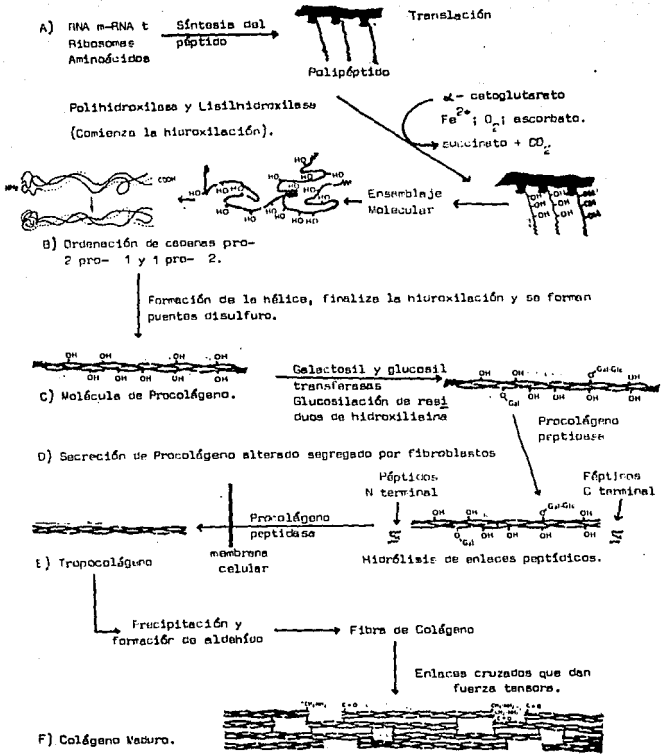
2. Dos de los aldehídos sufren una condensación aldólica (unión enolato derivado de un aldehído se adiciona al grupo carbonilo de otro aldehído).

3. El enlace cruzado aldólico, puede reaccionar con la cadena lateral 1-histidina, para formar un enlace cruzado de aldol-histidina.

4. El grupo aldehído en el enlace cruzado aldol-histidina, puede formar una base de Schiff con otra cadena lateral y así unirse covalentemente cuatro cadenas laterales. (86, 88, 90).

El proceso global de enlaces cruzados, es la maduración de la proteína y el producto final es insoluble a menos que ocurra degradación o desnaturalización. Las fibrillas de colágeno se forman entre las 24 y 45 horas y al final aumentan el diámetro y adquieren periodicidad a 640 Å con varias estriaciones. (98,110).

Existen sustancias que alteran el mecanismo de síntesis como altas dosis de histamina, la incorporación de canavina inhibe el proceso normal y provoca una sensación diferida en el procolágeno, la aminofilina inhibe la incorporación de prolina al colágeno; en cambio la adición de heparina y sulfato de dextrán aumentan la incorporación de ella, (58, 62). además de la intervención de hormonas sobre este proceso. (86, 88, 110).



SÍNTESIS DEL COLÁGENO. FIG. III. 3

TIPOS DE COLAGENO

TIPO DE COLAGENO	FORMULA MOLECULAR	POLIMERO NATIVO	DISTRIBUCION TISULAR	RASGOS CARACTERISTICOS
Tipo I	$(\alpha 1(I))_2 \alpha_2$	Fibrilla	Piel, tendón, hueso, dentina, ligamento y aponurosis. Es el 90% del colágeno total.	Contenido bajo de hidroxilisina, sitios escasos de glucosilación de hidroxilisina, fibrillas anchas, UC=6
Tipo II	$(\alpha 1(III))_3$	Fibrilla	Cartilago, núcleo pulposo y cuerpo vítreo. Es el 10% del total.	Contenido alto de hidroxilisina, fibrillas más delgadas y muy glucosiladas. La UC = 6.
Tipo III	$(\alpha 1(III))_3$	Fibrilla	Piel fetal y adulta, útero y vasos sanguíneos. Posee fibrillas de reticulina, se considera un contaminante menor del tipo I y las fibrillas son como gel por su alto contenido de agua.	Contenido alto de hidroxiprolina y glicina, bajo en hidroxilisina, sitios escasos de glucosilación de hidroxilisina, enlaces disulfuro entre cisteínas en el extremo carboxilo de la hélice. La UC = 6.
Tipo IV	$(\alpha 1(IV))_3$ tentativa	Lámina basal	Glomérulo renal, cápsula del cristalino, lámina basal de células epiteliales y endoteliales.	Contenido muy alto de hidroxilisina casi totalmente glucosilada, rica en 3-hidroxiprolina, contenido bajo de alanina, retiene piezas de extensión de procolágeno. UC = 10
Tipo V	$A(\alpha B)_2$ ó $(\alpha A)_3$ y $(\alpha B)_3$	Desconocido	Muy difundido en cantidades pequeñas en láminas basales de vasos sanguíneos, células del músculo liso, exoesquelato de fibroblastos y mesénquima.	Contenido alto de hidroxilisina, fuertemente glucosilada, poca alanina. No forma fibrillas nativas in vitro.

La relación de colágeno I y III, es relativamente constante en relación al tamaño del material fibroso y el colágeno III disminuye en cantidad respecto al I con la edad, lo cual puede relacionarse a la piel seca. La diferencia más importante está en la secuencia de aminoácidos de las cadenas; el I tiene 2 cadenas idénticas y 1 diferente y los tipos II, III y IV tienen las 3 cadenas idénticas; mientras que el colágeno V aún está en discusión. (45, 58, 62).

COLAGENASA.

Enzima que digiere y degrada el colágeno natural o artificial por rompimiento de enlaces peptídicos, localizados en regiones helicoidales. Es un complejo amorfo y termolábil, cuyas fracciones son : A (peso molecular de 105 000), B (peso molecular de 57 400) y una subunidad C inactiva (peso molecular 25 000). Su pH óptimo va de 7 a 8.

Las trazas de Ca^{2+} se necesitan para la adsorción de la enzima al substrato y que haya actividad. Su acción es la siguiente:



La reacción I es enzimática y resulta en la incisión de la molécula en polipéptidos, lo cual se aprecia como un cambio en la viscosidad; la reacción II es térmica. La colagenasa puede actuar en:

1. Sitios localizados sobre las 3 cadenas polipeptídicas del colágeno y las cadenas podrían tener secuencias comunes de aminoácidos.

2. En una región de la molécula, donde hay ruptura en la configuración espiral o donde hay cambio en la naturaleza de ésta.

Es compatible con antibióticos (como sulfato de polimixina B, neomicina y bacitracina), peróxido de hidrógeno, solución de Darkin y solución salina normal con solución amortiguadora a pH=0 - 7.5. Se altera con antisépticos con metales pesados como mercurio y plata, detergentes y hexaclorofeno.

Su potencia se expresa en términos de su habilidad para digerir el colágeno bovino no desnaturalizado in vitro. (78, 79, 83). Se usa en la investigación de la estructura y biosíntesis de colágeno, dispersión de células en cultivo de tejidos, debridamiento de áreas severamente quemadas y lesiones dérmicas.

Existen 2 tipos de colagenasa:

A. Sintetizada por el microorganismo *Clostridium histolyticum* que provoca gangrena gaseosa. La enzima rompe cada cadena en el enlace X - Glicina - Prolina - Y, y ayuda a la invasión de la bacteria porque destruye las barreras del tejido conjuntivo del huésped; la bacteria no es afectada porque no contiene colágeno.

B. Tisulares presentes en tejido de anfibios y mamíferos sometidos a crecimiento o reestructuración como la cola nadadora de renacuajos (que sufre metamorfosis) o el útero después del parto. (98, 109, 113).

CAPITULO IV

ESTRUCTURA DEL COLAGENO.

Las cadenas constituyentes del colágeno se sintetizan inicialmente como precursores mayores, el precursor de la cadena 1 es la pro α_1 igual que para la cadena α_2 . Las cadenas pro se sintetizan por los fibroblastos y se secretan en el espacio extracelular del tejido conjuntivo. (75). La unidad estructural son 3 cadenas polipeptídicas enrolladas a lo largo de una triple doble hélice, la visualización de la estructura es como una soga triple de cables retorcidos; cada cadena está torcida en una hélice con giro a la izquierda de 3 residuos por vuelta. Tres de estas hélices con giro a la izquierda son entonces enrolladas en la super hélice con giro a la derecha, para formar una molécula rígida y se requiere una rotación de 324° para dar la hélice de hebras individuales; con una traslación de 8.58 \AA . (29, 84, 88, 96).

Las 3 cadenas están arregladas de forma que sus ejes son paralelos y podrían formar las esquinas de un triángulo equilátero, con lados de aproximadamente 5 \AA . La superhélice tiene una inclinación de 104 \AA . (89).

La estructura está estabilizada por :

1. Enlaces de hidrógeno intercadena, los donadores de hidrógeno son los grupos amino peptídicos de los residuos de glicina y los aceptores son los grupos carboxil peptídicos de residuos de las otras cadenas. La dirección del enlace es transversal a la longitud del eje del tropocolágeno.

2. Enlaces covalentes cruzados que pueden ser de 2 tipos:

- Intramoleculares (dentro de una unidad de tropocolágeno) que derivan de las cadenas laterales de la lisina.
- Intermoleculares (entre unidades diferentes de tropocolágeno). (85, 94).

CAPITULO IV

ESTRUCTURA DEL COLAGENO.

Las cadenas constituyentes del colágeno se sintetizan inicialmente como precursores mayores, el precursor de la cadena γ es la pro α_1 , igual que para la cadena α_2 . Las cadenas pro se sintetizan por los fibroblastos y se secretan en el espacio extracelular del tejido conjuntivo. (75). La unidad estructural son 3 cadenas polipeptídicas enrolladas a lo largo de una triple doble hélice, la visualización de la estructura es como una soga triple de cables retorcidos; cada cadena está torcida en una hélice con giro a la izquierda de 3 residuos por vuelta. Tres de estas hélices con giro a la izquierda son entonces enrolladas en la super hélice con giro a la derecha, para formar una molécula rígida y se requiere una rotación de 324° para dar la hélice de hebras individuales; con una traslación de 8.58 \AA . (29, 84, 88, 96).

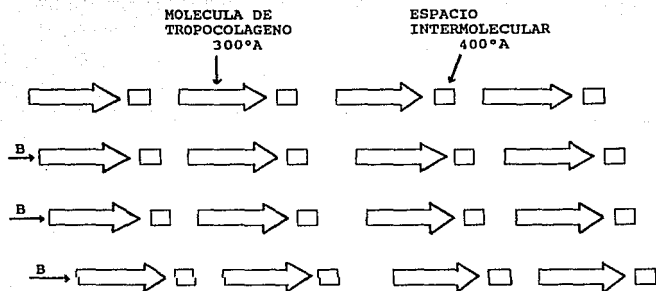
Las 3 cadenas están arregladas de forma que sus ejes son paralelos y podrían formar las esquinas de un triángulo equilátero, con lados de aproximadamente 5 \AA . La superhélice tiene una inclinación de 104 \AA . (89).

La estructura está estabilizada por :

1. Enlaces de hidrógeno intercadena, los donadores de hidrógeno son los grupos amino peptídicos de los residuos de glicina y los aceptores son los grupos carboxil peptídicos de residuos de las otras cadenas. La dirección del enlace es transversal a la longitud del eje del tropocolágeno.

2. Enlaces covalentes cruzados que pueden ser de 2 tipos:

- Intramoleculares (dentro de una unidad de tropocolágeno) que derivan de las cadenas laterales de la lisina.
- Intermoleculares (entre unidades diferentes de tropocolágeno). (85, 94).



REPRESENTACION ESQUEMATICA DEL TROPOCOLAGENO.

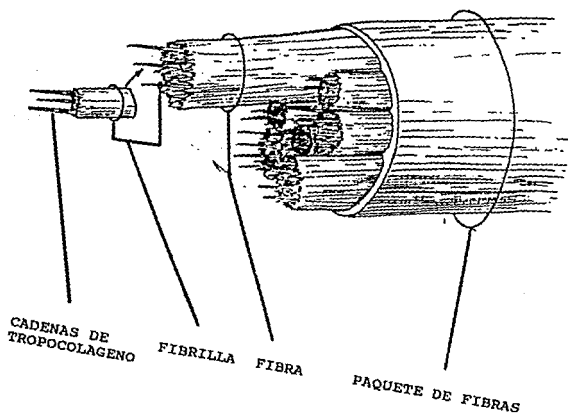
Las moléculas de tropocolágeno se acomodan a un cuarto de su longitud con relación a la hilera anterior y dejan un hueco una tras otra de 400 A°. (8).

FIG. IV. 1

La estructura y enlaces dan al colágeno su fuerza única y propiedades y los enlaces cruzados dan fortaleza mecánica a las fibras. El número y tipo de enlaces cruzados varía con la función fisiológica y con la edad del tejido y en embriones, fetos y animales jóvenes las interacciones son probablemente no covalentes y se disuelven rápidamente. El movimiento térmico puede superar las fuerzas que estabilizan la hélice, sufrir una fuerte transición estructural y dar una estructura descompuesta (gelatina). (8, 86, 109).

La geometría total de la fibra se ha deducido de estudios de rayos X y microscopía electrónica, presenta estriaciones a 640 \AA lo que sugiere que la estabilidad es mayor para estructuras pequeñas. Las espirales moleculares del colágeno, se asocian dando filamentos, los que se agregan para dar unidades de fibrillas (más rígidas e inflexibles), que componen las fibras visibles microscópicamente y éstas finalmente forman los paquetes de fibras.

Los polipéptidos del colágeno son la ruptura de las fibras individuales en unidades más pequeñas por hidrólisis de enlaces peptídicos; y el colágeno soluble es la separación y el aislamiento del tropocolágeno del colágeno insoluble. (98).



FORMACION DE PAQUETES DE TROPOCOLAGENO.
FIG. IV.2

NIVELES DE LA ESTRUCTURA DEL COLÁGENO

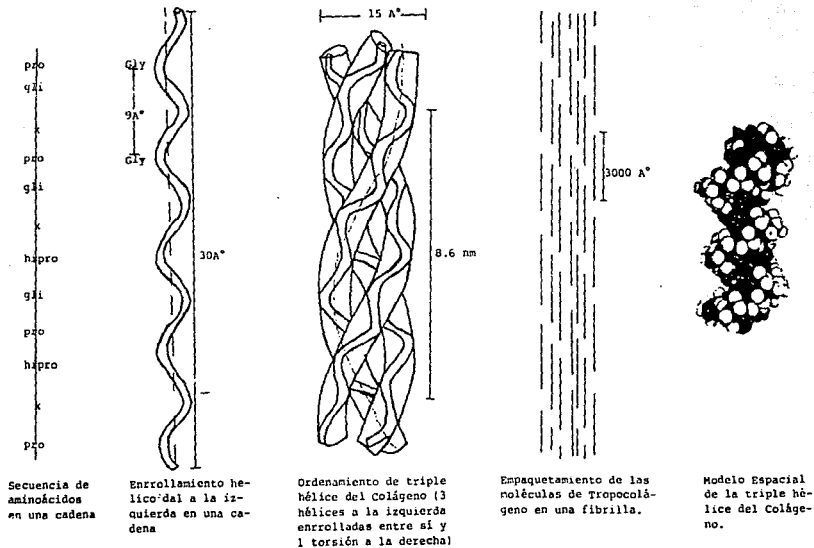
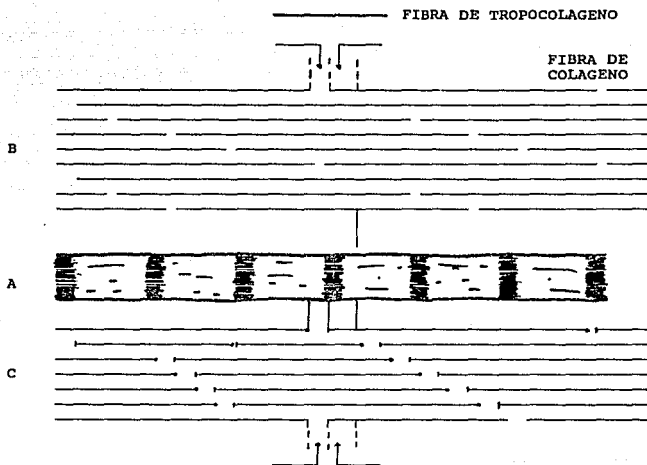


FIG. IV. 3



A. Bandas características del colágeno.

B. Las bandas son debido al ordenamiento espacial escalonado.

C. Ampliación de B donde se aprecia que el espacio intermolecular del tropocolágeno coincide regularmente cuando se unen varias hileras formando las bandas características.

FIG. IV.4

COLAGENO.

Datos técnicos y representación esquemática de su estructura.

PESO MOLECULAR	285 000
ESTRUCTURA	triple hélice; 3 cadenas α por molécula
LONGITUD	280 nm
DIAMETRO	1.4 nm
AMINOACIDOS	1050 por cadena
COMPOSICION DE LOS AMINOACIDOS	Alrededor de 20 aminoácidos diferentes, principalmente: 33 % de glicina, 22 % de prolina e hidroxiprolina.

ESQUEMA IV. 1

CAPITULO V.

PROPIEDADES COSMETICAS DEL COLAGENO.

Las propiedades que se le atribuyen al colágeno en la piel son las siguientes:

1. Proporciona suavidad, sedosidad, elasticidad y flexibilidad.
2. Mantiene un balance adecuado, para satisfacer los requerimientos físicos, químicos y fisiológicos. (1,2,3, 6).
3. Da a la célula, la proteína que le permite crear nuevas fibras de colágeno, frena la pérdida de sustancia y aumenta la tasa de hidratación profunda del tejido.
4. Contribuye en la habilidad de la piel para absorber humedad, minimizando la pérdida de agua.
5. Ayuda en la reparación y normalización de la epidermis, porque deja una capa fina de protección. (5, 8, 29)
6. No pretende borrar las arrugas, pero si corregir las que están en vías de formación y dar firmeza.
7. Permite sentir la piel lisa y aterciopelada.
8. Mejora la turgencia. (6, 12).
9. Sirve como regulador del efecto del bronceado, al elevar la humedad y mejorar la función de los capilares de la piel. Reduce además el despellejamiento y arrugamiento que ocasionan los baños de sol.
10. Combate el tejido cutáneo envejecido, por lo que puede funcionar como agente profiláctico y terapéutico. (31, 66, 77).

Muchas de las propiedades mencionadas anteriormente, pueden mejorarse al formar los derivados del colágeno, como los hidrolizados que por tener menor tamaño y una solubilidad más alta en el agua, son preferidos en las formulaciones cosméticas y los condensados de colágeno son ácidos grasos que disminuyen la irritación normal del ácido graso, y que también tienen propiedades emulsificantes. (47, 57).

Los hidrolizados de colágeno dan protección a la piel contra la irritación provocada por agentes surfactantes activos, y mejoran funcionalmente los aditivos tradicionales para productos de ducha, esto se logra por su efecto protector coloidal. (56). Sirven como emolientes oclusivos eficientes cuando se aplican en la uña, ayudando a mantener una cutícula sana y fuerte, mientras retienen la humedad vital para la elasticidad óptima de ella.

Los hidrolizados además activan los estratos cutáneos de la piel y causan proliferación celular, formando una película ligera e invisible; en cremas y lociones evitan los problemas relacionados con la gelificación. (46, 109). También restituyen los aminoácidos en el estrato córneo (que componen el 40 % del factor de humedad de la piel), ayuda a que la piel no se desengrase tanto por surfactantes y disminuye la desnaturalización de las proteínas en sistemas detergentes. En los depiladores amortiguan la acción de éstos y sirven de emolientes. (57).

La opinión de que el colágeno realmente pueda penetrar la piel y retardar el proceso de envejecimiento, ha sido difícil de probar y ha creado fuertes polémicas. Los ensayos de Smith muestran que el colágeno marcado con C_{14} , no puede pasar o penetrar la piel sino que es un recurso únicamente para mantener la humedad y rehumedecer la piel seca, ya que es altamente hidratante al formar puentes de hidrógeno e interactuar con los componentes de la piel. (5).

Los resultados sobre callos humanos muestran que el tratamiento con cremas de colágeno aumentan el contenido de humedad del callo, debido a que el colágeno soluble absorbe de 3 a 8 veces su peso en agua.

La absorción de la molécula es imposible, si no está desnaturalizada, pues la penetración dérmica sería cero y su acción muy superficial. (8, 19). En un estudio sobre la piel vía técnica de remoción con Cinta Scotch, el colágeno estuvo presente sólo en las primeras 6 capas del estrato córneo y no hubo penetración más allá.

Se han hecho estudios sobre la biodistribución y características de la absorción del colágeno en ratas por 2 vías de administración: tópica (sobre la piel) y subcutánea; se apreció que los perfiles son cualitativamente comparables y la absorción de colágeno soluble por la piel es relativamente pequeña las primeras horas, pues necesita además de un tiempo mayor para llegar al torrente sanguíneo. (23, 30).

La proteína será más substantiva a la piel y el cabello si la formulación está abajo de su punto isoiónico. En lo referente a los hidrolizados de colágeno, son de bajo peso molecular y consisten de cadenas cortas y sencillas que van de 10 a 300 unidades de aminoácidos. Eigen concluyó que el peso molecular de 150 a 10 000 tiene las propiedades deseadas, siendo el tamaño molecular importante para mejorar la sequedad. (40, 48).

Pruebas extensivas de los hidrolizados por técnicas de trazado radioactivo, microscopía electrónica de exploración y el método clásico de la hidroxiprolina han demostrado que son sustantivos a la piel y el cabello. Las pruebas de compatibilidad en el ojo de conejo y la prueba epicutánea en humanos y animales, mostraron que entre un 5 y 10 % de hidrolizado son suficientes para disminuir considerablemente los efectos de irritación por tensoactivos aniónicos. (77).

Stern comprobó que los condensados de proteína también son sustantivos a las capas externas de la piel y ayudan a la absorción de la humedad de la atmósfera. (57).

Recientemente se ha desarrollado un método que puede ayudar a la evaluación cuantitativa del efecto humectante del colágeno sobre las líneas faciales superficiales, por una apreciación visual descriptiva. (44).

Además de la aparición de los liposomas (esférulas de fosfolípidos que encapsulan colágeno), que humectan a la vez que ocluyen la piel y que bien podrían aumentar la absorción del colágeno debido a que son liposolubles en las capas dérmicas, con lo cual el uso del colágeno en cosmetología sería aún más común y bien fundamentado, lográndose así productos de innovación que den plena satisfacción al consumidor. (2, 7).

ISOTERMA DE ABSORCION DE HUMEDAD DEL COLAGENO.

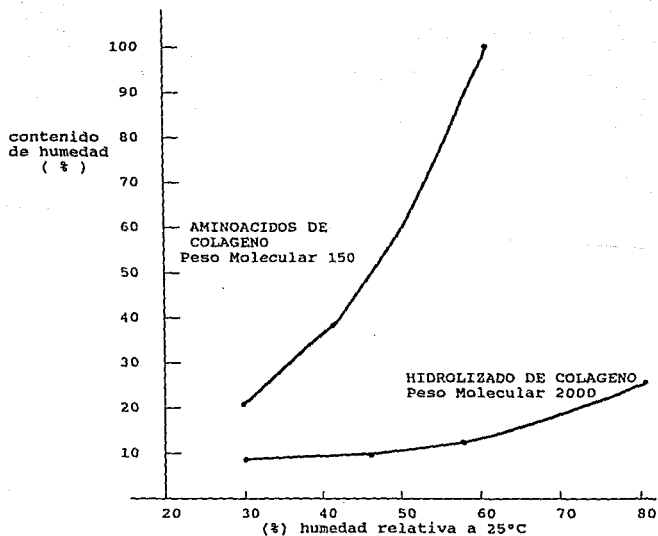


FIG. V.1

CAPITULO VI.

EL COLAGENO EN EL CABELLO.

En el cabello se aprecian 2 partes: la superior o tallo y la profunda o raíz que está en íntima adherencia con las paredes del folículo piloso. En un corte transversal del tallo se distinguen 3 zonas:

1. Zona Central o Médula que se vuelve estrecha conforme asciende y la forman células que pueden tener pigmento.

2. Zona Mediana, Corteza o Cortex compuesta de largas células fusiformes y pigmentadas adheridas entre sí, queratinizadas y sin núcleo. Forma el cuerpo del cabello.

3. Cutícula o Epidermicula es la capa exterior y se forma sobre una sola hilera de células planas, córneas, sin núcleo, translúcidas, sin pigmento y dispuestas como escamas que miden de 80 a 100 μ de longitud y 0.5 μ de espesor. (99, 119).

La condición y fuerza del cabello, dependen de los enlaces peptídicos. Cuando las células en lugar de pigmento poseen aire, aparecen las canas. El cabello se implanta en el folículo piloso que tiene fibras musculares involuntarias y con el frío o emociones se contrae y eriza. (8, 15, 53).

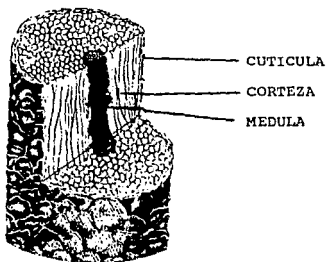
El diámetro del cabello va de 60 a 80 μ , consiste en su mayoría de cisteína; el cuero cabelludo posee un promedio de 100 000 fibras de cabello y puede perder hasta 100 cabellos por día. El cabello tiene una fase de crecimiento (anagena) por 3 años, mantiene una fase de apoyo (telogena) de 3 meses, se cae y una nueva fase de crecimiento comienza. (25).

El cuero cabelludo secreta un aceite (sebo), el cual previene la pérdida de humedad, protege, da brillo, acondicionamiento y lustre a las fibras de cabello. (50, 54, 69). Los problemas más comunes en el cabello incluyen:

TABLA VI.1

CARACTERISTICA	%
Caspa	40
Cabello grasoso	38
Cabello delgado, fino, difícil de manejar	18
Orzuela	16
Pérdida de cabello	10
Cabello seco, sin brillo y sin lustre	5

Así alrededor del 87% de la población, considera que tiene alguna alteración o problema en el cabello.



CORTE ESQUEMATICO DE CABELLO.

Fig. VI. 1

PROPIEDADES COSMETICA DEL COLAGENO EN EL CABELLO.

El uso del colágeno en preparaciones para el cabello, cada vez aumenta más debido a que imparte las siguientes propiedades:

1. Da suavidad, elasticidad, brillo y mayor cuerpo al cabello, proporcionando salud y un aspecto más natural acompañado de una sensación de mejoría en el cabello dañado. Disminuye también la fragilidad.

2. Proporciona manejabilidad y docilidad para el peinado. (1, 3, 4).

3. Cuando se usa en productos decolorantes del cabello, lociones de ondulado permanente o para alaciar, ayuda a minimizar el daño en la fibra de cabello. (10)

4. En los shampoos, enriquece las propiedades espumantes para una acción limpiadora total, aunque sin desengrasar excesivamente ni el cabello ni el cuero cabelludo. Evita que la espuma sea irritante y que provoque enrojecimiento de los ojos.

Fortalece la capacidad espumante y previene su ruptura rápida debido a su propiedad de coloide protector y formador de película. (8, 77).

5. Impide la acción de la dureza del agua en preparaciones para la limpieza del cabello.

6. Mejora el proceso nutricional, evitando así la orzuela por ser reconstituyente de células muertas. (3, 9).

Los derivados del colágeno también sirven para regular el proceso de oxidación en la decoloración y se usan como surfactantes en tintes en shampoo, porque ayudan al tinte a dispersarse y que se absorba totalmente en el cabello. Un condensado de colágeno también puede mejorar la compatibilidad entre agentes tensoactivos por ejemplo: el condensado de colágeno con ácido undecilénico, ayuda en las preparaciones anticasca y para el cuidado de los pies; y con ácido abiético retarda el efecto de reengrase del cabello.

Los derivados catiónicos intensifican el efecto acondicionador y permiten obtener preparaciones en solución transparente lo cual da un mejor aspecto físico al producto. (1, 77).

Los estudios realizados han demostrado que el colágeno penetra a través de la cutícula y dentro de la corteza, lo que implica que es absorbido por el cabello. (13, 30, 47). El grado de sustentividad depende del grado de perjuicio del cabello, concentración y tamaño molecular de la proteína o el hidrolizado, tiempo de permanencia, pH y naturaleza de la formulación.

La sustentividad resulta de la formación de complejos en los que se involucran grupos carboxilo electrofílicos y grupos amino nucleofílicos de la proteína y por otra parte grupos nucleofílicos amino y sulfhidrilo del cabello. (4, 10, 42).

Si en la formulación existe una relación de una parte de sólidos de proteína por 4 partes de espumante activo, entonces aumenta y estabiliza la espuma. (8). En general, para compensar la pérdida normal de aminoácidos y proteínas se usan concentraciones bajas, pero para regenerar el cabello dañado por tintes y decolorantes se puede usar la mayor cantidad posible, aunque considerando que es más importante el tratamiento prolongado que el uso excesivo de la proteína en una o pocas ocasiones. (3).

Las propiedades sinérgicas suavizantes de la proteína y los condensados de ácidos grasos-proteína, se han comprobado usando la enzima sacarosa en combinación con detergentes sintéticos, mostrando que la enzima es desactivada irreversiblemente por los detergentes y no desactivada en presencia de la proteína o el condensado. (48).

Los condensados de proteína con ácidos grasos se obtienen por condensación de Schotten-Baumann, a partir de hidrolizados de colágeno con cloruros de ácidos grasos y neutralización con bases orgánicas e inorgánicas. Al aumentar la fracción de proteína, hay pérdida en la capacidad de desengrase y la formación de espuma no es alterada. (22).

Un estudio reciente para poder establecer la sustantividad al cabello de polipéptidos derivados del colágeno, se basó en el uso del Tritio como marcador y espectroscopía de emisión para la detección cuantitativa, lo que abre un nuevo camino en ese tipo de estudios, apoyándose en la trititación como un revelador en cosmetología. Se concluyó que el polipéptido se absorbe en cantidades significativas y hay mayor absorción a mayor concentración, aunque esto no implica una relación directamente proporcional. (1).

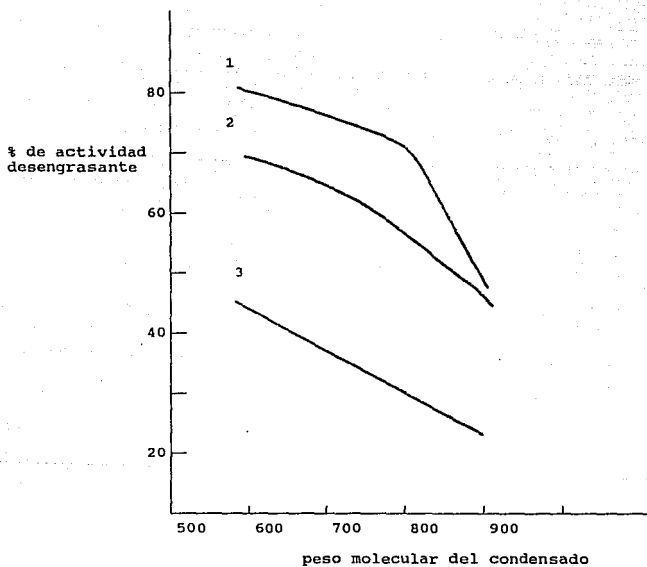
Karjala, Williamson y Kaerler anteriormente probaron la absorción de un derivado por medio del ensayo de hidroxiprolina y la decoloración con ninhidrina. (10, 47). Los valores obtenidos fueron los siguientes:

- Cabello virgen (sin daño, es decir, no sometido a ningún tratamiento químico) = 0.08 % de péptido sorbido
- Cabello teñido (moderadamente dañado) = 0.2 % de péptido sorbido
- Cabello ondulado y teñido (severamente dañado) = 3.0 % de péptido sorbido. (30).

Esto se explica porque la primera acción del péptido es sobre la cutícula y el aumento en la sorción se debe a que, en el cabello dañado la cutícula ha sido removida y puede penetrar mayor cantidad de péptido, además de que la fibra es más porosa cuando más dañada está. Lo que indica que la proteína se absorbe cuando se necesita. (8, 11, 43, 47). Para los condensados de coco-colágeno se dan las siguientes cantidades como recomendación para diferentes productos: (6)

shampoo para bebé	50 - 70 %
shampoo familiar	30 - 50 %
shampoo de cuerpo	20 - 50 %
baño de burbujas	20 - 50 %

ACTIVIDAD DESENGRASANTE DE LOS CONDENSADOS DE PROTEINA CON ACIDOS GRASOS.



- (1) 10.0 g de sustancia activa/litro
- (2) 5.0 g de sustancia activa/litro
- (3) 2.5 g de sustancia activa/litro

Fig. VI. 2

SUSTANTIVIDAD DEL COLAGENO AL CABELLO HUMANO

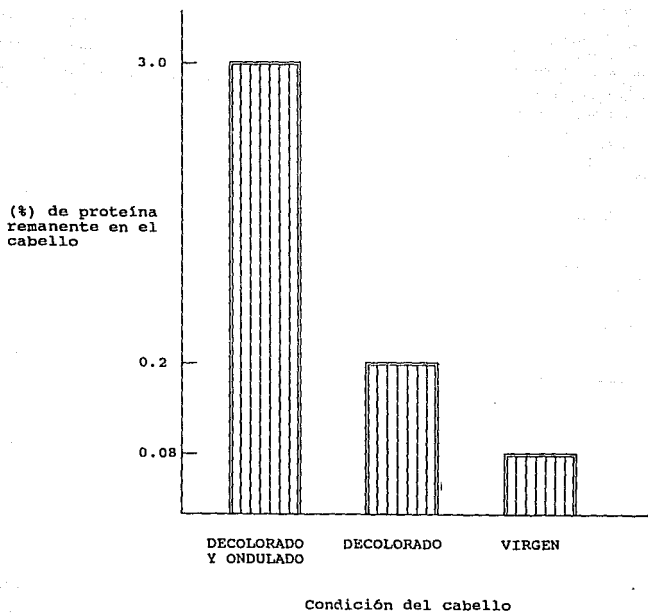


Fig. VI. 3

CAPITULO VII.

APLICACIONES DEL COLAGENO EN COSMETOLOGIA.

Se han elaborado infinidad de productos cosméticos que contienen colágeno, y cuyo objetivo principal es mantener una piel sana, humectada y con apariencia juvenil.

La proteína es útil en cosméticos sólo cuando es soluble en agua, es por eso que se hidroliza con enzimas, en medio alcalino o ácido; además de que disminuye el peso molecular y con ello aumenta la compatibilidad con el alcohol, lo cual permite crear nuevas formas cosméticas como aerosoles, lociones, etc. (3).

Es muy amplio el campo de productos que utilizan colágeno como: cremas nutritivas, cremas de noche, cremas hidratantes, cremas para evitar las marcas del abdomen durante el embarazo, lociones, endurecedor de uñas, detergentes líquidos para lavar trastos, preparaciones para después del baño y la ducha, productos de protección solar, mascarillas, jabones, depiladores, desodorantes, antitranspirantes en roll on, etc. (5, 12, 38, 68).

En lo que respecta a productos para el cabello se tienen en el mercado: acondicionador, shampoo, enjuague, fijadores del peinado, lociones ondulantes, gel, tinte, decolorante, tónico capilar, aerosoles, alaciadores, etc. (8, 10, 14).

Además de una línea de productos específicamente para hombres que incluyen cremas, gel, shampoo y demás artículos adecuados para mantener la piel del hombre en condiciones óptimas y protegerla de los factores ambientales.

Es importante mencionar que los artículos se presentan en infinidad de formas físicas lo que muestra que el colágeno puede incluirse en muchos cosméticos. (63).

PROPIEDADES DE LOS COLAGENOS COMERCIALES

El colágeno soluble es miscible en agua y en mezclas de etanol-agua, pero no da soluciones claras. A concentraciones mayores de 20 % de etanol, las suspensiones son estables pero turbias. Es insoluble en aceite, grasa, cera y ciertos solventes orgánicos. Es compatible con lauril sulfato de sodio. El almacenamiento debe ser de 10°C a menos de 35°C, en un lugar fresco y seco y se conserva alrededor de 1 año. (4,6).

En la preparación de cosméticos el colágeno se adiciona en la fase final del proceso y a una temperatura menor a 35°C. En algunos casos puede usarse una solución amortiguadora para la incorporación que puede ser:

- Solución al 0.15 M de ácido cítrico con una solución al 0.15 M de citrato de sodio a pH de 6.5.

- Solución al 0.15 M de citrato de sodio con ácido cítrico a pH de 3.7. (8).

Los productos en el mercado son compatibles en un amplio rango de pH (de 4.0 a 10.0) y son inodoros e incoloros. Puede tener diferentes funciones como antirritante, emoliente, emulsificante, estabilizante de emulsiones o de espuma, gelificante o supergrasoso. (20, 30).

Las cantidades estándar recomendadas para productos en la piel son: (6).

crema de día	3-5 %
crema para después de asolearse.	1.5-3%
crema facial	3-5%
crema de noche	5%
crema hidratante	5%
emulsión de tratamiento	2-5%
loción para después de asolearse	1.5-3%
loción facial	1.5-3%
detergente líquido	2-3%

PROPIEDADES DEL COLAGENO COMERCIAL Y SUS HIDROLIZADOS

FORMA DE COLAGENO	TIPO DE PROTEINA	PESO MOLECULAR	ROT. OPTICA	SOLUBILIDAD EN AGUA A 20° C	HABILIDAD DE RETENER HUMEDAD	SUSTANTIVIDAD AL CALLO mg/g	PELICULA SOBRE LA PIEL	PRESENTACION COMERCIAL
TROPICOLAGENO Colágeno soluble (precursor) ↓ Polimerización	Nativa	300 000	-400°	Solución coloidal	Buena, especialmente a baja humedad	*	Sedosa y tersa	Dispersión en agua al 3 %
↓ Tejido fibroso de Colágeno hidrólisis ácida o alcalina	Nativa	1 000 000 ó más	Ninguna	Ninguna	Ninguna	0	Ninguna	Polvo grueso
↓ GELATINA Colágeno hidrolizado hidrólisis (ácida, alcalina o enzimática). Proteína de Colágeno hidrolizada. Hidrólisis ácida controlada.	Proteína hidrolizada	100 000	80° a -120°	Si es gel al 1 %	Moderada (mejor en callos)	1.4	Firme y tersa	Estructura cristalina
	Proteína hidrolizada	1 000 a 25 000	-100°	Libremente (menor en soluciones al -50 %)	Moderada (mejor en callos)	2.8	Firme y tersa	Polvo seco y pulverizado o líquido al -50 %.
↓ Aminoácidos de colágeno.	Aminoácidos libres (no proteína)	125	130°	Libremente (menor en soluciones al -60 %)	Excelente muy humectante	300.0	Sensación sedosa	Líquido al -40 %.

* Solución al 8% y pH = 5.5, marcadas radioactivamente.

FIG. VII. 1

El colágeno no debe ser procesado con productos que rompen enlaces cruzados como el formaldehído o conservadores que liberen formaldehído. No debe combinarse con agentes que rompan enlaces de hidrógeno como taninos, extractos de plantas que contengan tanino, urea, formamida, ácido cloracético, ácido acético o clorhidrato de guanidina, ni tampoco con conservadores halogenados ni con fragancias con aldehídos altamente reactivos.

Para el colágeno en solución acuosa se propone las siguientes alternativas para la conservación:

1. Germall 115 al 0.25 a 0.50 % en combinación con metil y propil parabeno de 0.1 a 0.2 %. (4 partes de metil y 1 parte de propil).
2. Bronopol en concentración de 0.01 a 0.05 % siempre y cuando el pH sea menor a 7.
3. Etanol y propilenglicol a concentración de 8 % en peso o más.
4. Las sales tri y tetracetilendiaminatetraacéticas aumentan los efectos de los parabenos.
5. Se puede adicionar ácido ascórbico cuando se necesiten propiedades adicionales fungicidas. (20).

En el mercado hay derivados catiónicos cuaternarios de hidrolizados de colágeno muy sustantivos y que tienen propiedades antimicrobianas contra bacterias Gram+, hongos y levaduras. Inhiben a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* al 0.5 % y a *Aspergillus niger* y *Candida albicans* al 0.25 % además de mejorar la efectividad de los sistemas preservativos antes mencionados. (61).

En Estados Unidos, y otros países, entre ellos México se difundieron noticias y rumores que atacaron el uso del colágeno en cosméticos, por ser obtenido de fetos humanos prematuros. Esto es inexacto pues el colágeno usado proviene solamente de animales, lo que implica que se ha malinterpretado la definición. La Administración de Alimentos y Drogas (FDA) continuamente monitorea las formulaciones e ingredientes usados en los cosméticos para garantizar conformidad con la ley, además la industria cosmética, no tiene razón o necesidad para usar material de fetos humanos.

Numerosas investigaciones mostraron que una compañía francesa alardeaba de los efectos de las células fetales para el rejuvenecimiento por ende, debemos establecer que estas acusaciones son inconsistentes. (8).

A continuación se presentan 10 formulaciones de diversos cosméticos, donde se utiliza colágeno, con lo cual se reafirma la enorme aplicación que ha tenido en los últimos años:

MOUSSE PARA DESPUES DE AFEITARSE:	g
cera emulsificante	6.00
diestearato de sucrosa	2.50
aceite de hígado de tiburón	5.00
butilhidroxianizol	0.05
laurildimetil amonio-hidrolizado de colágeno	0.50
trietanolamina-aminoácidos de colágeno	0.50
acetamida metilcetilamida	5.00
propilenglicol diazolidin urea y parabenos	1.00
agua deionizada	79.45
 LOCION PARA DESPUES DEL SOL: (ACEITE/AGUA)	
A. alcoholes grasos	4.00
poliglicol éter y alcohol graso	0.30
octil dodecanol	9.00
triglicérido caprílico cáprico	10.90
vitamina A(400 000 UI) y vitamina D ₃ (40 000 UI)	0.10
conservador	0.60
B. agua destilada	70.10
C. colágeno soluble animal	5.00

PRODUCTO DE LIMPIEZA FACIAL:

	%
A. agua deionizada	89.00
colágeno soluble animal	5.00
reticulina soluble	1.00
aminoácidos de colágeno animal	1.00
B. cloruro de acetamidopropil trimonio	1.50
polivinilpirrolidona	1.00
carboximetilcelulosa	0.50
polipropilenglicol-diazolidinurea y parabenos	1.00
trietanolamina	c.b.p. pH= 6.5

POMADA VEGETAL PARA EL CABELLO:

Acido gliceril C ₁₈ -C ₃₆ ester de cera	7.75
aceite de lanolina	6.00
alcohol oleflico	42.05
colesterol	0.50
aminoácidos de queratina	0.50
aminoácidos de colágeno	0.50
tocoferol	0.10
aceite de castor	41.50
D-pantenol	0.10
lanolina en alcohol	1.00
	63

ACONDICIONADOR DE UÑAS: (8).

	%
ácido etilenglicol C ₁₈ -C ₃₆ éster de cera	3.00
ácido gliceril C ₁₈ -C ₃₆ éster de cera	10.00
aceite de lanolina	6.50
aceite de castor	38.00
alcohol cetearílico y lanolina en alcohol	3.00
alcohol oleílico	38.50
aminoácidos de queratina	0.50
aminoácidos de colágeno	0.50
butilhidroxianisol	0.01
fragancia	c. b. p.

DETERGENTE LIMPIADOR EN MOUSSE PARA HOMBRE: (71).

cocoamfocarboxipropionato y lauril sulfato de sodio	30.00
polipropilenglicol 12-polietilenglicol 50-lanolina	2.00
trietanolamina-aminoácidos de colágeno	8.00
agua deionizada	c. b. p. 100
perfume	c. b. p.
conservadores	c. b. p.
empaque con 95%	butano al 5%

AEROSOL CON COLAGENO PARA DAR BRILLO: (40).

	%
alcohol	75.00
etiléster de hidrolizado de proteína animal	1.00
etiléster y copolímeros	9.50
aminometilpropanol	0.40
laurilolemetilamina y aminoácidos de colágeno	0.40
polietilenglicol 65 y aceite de lanolina	1.00
pantenol	0.20
fragancia	c.b.p.
agua deionizada	12.20

BAÑO DE BURBUJAS: (61).

lauril sulfato de amonio al 30%	15.00
aminoácidos de calágeno	10.00
condensado de colágeno hidrolizado y cocotrimonium	3.00
propilenglicol	1.00
metil parabeno	0.15
propil parabeno	0.05
bronopol	0.05
fragancia, color y agua	c.b.p. 100
ácido fosfórico	c.b.p. pH=5.00-6.00

LOCION PARA MANOS EXTRA HUMECTANTE: (63).**%**

A. Dicaprilato de propilenglicol-dicaprato	7.00
estearato de glicerilo	4.00
esterol de soya	3.00
esterol de soya y polietilenglicol 10	1.00
alcohol cetílico	1.00
esteramidopropildimetilamina	1.00
propil parabeno	0.05
B. glicerina	4.00
ácido cítrico	0.20
metil parabeno	0.15
hidrolizado de colágeno	5.00
agua deionizada	73.25
C. 2-bromo-2-nitropropano-1, 3-diol	0.05
perfume	0.30

**PRODUCTO PARA PREVENIR LESIONES DE LA PIEL EN
HOMBRES: (66).**

%

propilenglicol	5.00
cera de abeja	5.00
alcohol cetílico	4.00
lanolina reducida	5.00
escualeno	35.00
monoestearato de glicerilo	2.00
polisorbato 20	2.00
pigmentos del azúcar	1.00
colágeno soluble	0.50
metil parabeno	0.10
etil parabeno	0.15
perfume	0.10
agua deionizada	40.15

OTRAS APLICACIONES.

El colágeno además de tener aplicación y uso en cosmética tiene un amplio campo de acción en otras áreas como se vera a continuación:

En la industria alimentaria sirve como nutriente en procesos de fermentación como la fabricación de vinagre, antibióticos etc.

En la industria química, los colorantes de ropa se han beneficiado por la inclusión de la proteína, para dar una coloración más uniforme sobre las fibras sintéticas. También se han usado hidrolizados microencapsulados para modificar la resistencia al agua. (30).

Funciona como nutriente en medios de cultivo para bacterias, proporcionando los requerimientos básicos de nitrógeno. (3).

El colágeno inyectado (vía subcutánea), tiene efecto sobre el espesamiento de la piel y administrado en la boca permite tener labios gruesos y carnosos (24).; también sirve para el tratamiento y desvanecimiento de arrugas y cicatrices del acné por reconstitución, reestructuración, y renovación celular. (32, 33, 113).

Las formas especiales de colágeno sirven: para membranas de diálisis, el colágeno microcristalino en proyectos prostéticos, el colágeno regenerativo en la cubierta de embutidos y como gel en emulsiones fotográficas. (115).

El colágeno microfibrilar se usa en vendajes quirúrgicos como hemostático y coagulante y como parches para la liberación transdérmica. (34, 83).

En la industria farmacéutica se administra a personas con insuficiencia digestiva y para mejorar la nutrición por su alto valor biológico y proteínico. (29). Aunque también puede ser anti necrótico y antiinflamatorio. (6).

La medicina comienza a interesarse por el colágeno, ya que ayuda en la curación de heridas y quemaduras. (5). Las fibras se

usan como piel artificial que por ser un componente natural es diferente a un implante como los silicones. Las fibras de colágeno, junto con el sulfato de condroitina se usan como injertos en quemaduras. (36, 62, 79).

La gelatina (producto de la hidrólisis parcial del colágeno), se usa en la cubierta de cápsulas duras y blandas, como vehículo isoosmótico en formas farmacéuticas; como emulsificante en postres, helados de crema, ensaladas, saborizantes, pan, confitería, etc. (78, 99).

Es un componente primordial en medios de cultivo bacteriológicos, en cubiertas sensibles a la luz para películas y placas. (91,93). Interviene también en la industria de plásticos, textil, de papel, litográfica. etc.

La cola que es otro producto de degradación del colágeno es un importante adhesivo. (102).

La información compilada permite visualizar y tener una amplia panorámica de la importancia del colágeno y sus derivados en la vida diaria, ya que interviene en un gran número de artículos de uso común para el consumidor.

CAPITULO VIII.

PARTE EXPERIMENTAL.

El objetivo del presente trabajo es la adaptación y optimización de un shampoo que contiene uno de los ingredientes activos más importantes en la industria cosmética actual, el colágeno; cuyas propiedades y características han permitido el crecimiento mercadológico de productos que lo contienen.

El alcance del shampoo es introducir el concepto nuevo e innovador de protección solar como apoyo en el cuidado del cabello, para evitar el efecto de los rayos solares, que causan resequedad y decoloración. Así, presentamos un producto que reúne la acción de dos agentes específicos: uno proteínico como el colágeno y otro preventivo a la acción solar como el uvinul.

Finalmente se presenta un producto que puede usar toda la familia, estableciéndose la función de cada ingrediente dentro de la formulación.

SHAMPOO UNICO PARA TODO TIPO DE CABELLO:	%
A. Lauril éter sulfato de sodio (+ al 28%) (detergente aniónico)	30.00
Cocoamidapropiltegotetina (detergente anfotérico muy suave, con acción emoliente)	6.50
Dietanolamida de coco (aumenta la cantidad y la estabilidad de la espuma y da viscosidad)	1.00
Solución de sequestrene (evita la formación de jabones insolubles de materiales pesados)	1.00
	70

Alcohol de lanolina (da brillo, suavidad y sedosidad al cabello, además tiene acción acondicionadora)	1.00
Uvinul MS-40 al 5 % (filtro UV para evitar acción decolorante del sol)	0.60
B. Solución al 35 % de hidrolizado de colágeno (da suavidad, brillo y cuerpo al cabello y ayuda a su manejabilidad y docilidad)	4.00
C. Kathon 66 * (conservador de amplio espectro ideal para usarse en soluciones de agentes tensoactivos)	0.03
ácido cítrico (para ajustar el pH pues el tegrócido trabaja mejor entre pH 6 y 7. Funciona también como amortiguador)	aprox. 0.02
Perfume (notas floral-herbal) (para que sea unisex)	0.30
Cloruro de sodio (electrolito para ajustar la viscosidad final. Este se debe manejar a valores reducidos para lograr un producto que no produzca resequead en el cuero cabelludo)	aprox. 1.20
agua deionizada	c.b.p. 100.00

*aunque aún se usa mucho el formaldehído, ya no se considera adecuado porque puede alterar el hidrolizado de colágeno, como se mencionó anteriormente.

Comentarios: el shampoo queda transparente, ligeramente amarillo y la viscosidad debe ajustarse entre 2500 y 3500 cp, el pH se ajusta entre 6.0 y 6.8. No se le agrega solución de color porque la tendencia moderna, pide evitar pigmentos y colorantes en los productos, siempre que sea posible.

Método de Fabricación:

Combinar los ingredientes de la fase A a 70°C con agitación y mezclar hasta uniformidad. Enfriar a 40-35°C, agregar la fase proteínica B y posteriormente adicionar la fase C disuelta en un poco de agua.

Continuar la agitación. Adicionar el cloruro de sodio en soluciones de agua lentamente y mezclar hasta alcanzar la viscosidad deseada. Agregar el ácido cítrico y ajustar el pH. Finalmente incorporar el perfume, homogeneizar y proceder al llenado.

El shampoo proporcionará al consumidor, lo óptimo en productos limpiadores y acondicionadores dando excelente manejabilidad en húmedo y facilidad para el peinado, además de protegerlo del daño causado por el sol, gracias a la incorporación del filtro solar.

CONTROLES Y RESULTADOS:

A continuación se presentan los controles y resultados fisicoquímicos y microbiológicos de la formulación desarrollada:

Producto: shampoo único para todo tipo de cabello.

CONTROLES	RESULTADOS	METODO
apariciencia	líquido viscoso, claro, sin grumos y libre de partículas extrañas.	visual
color	ligeramente amarillo y transparente.	visual
olor	agradable (floral-herbal). Comparar contra un estándar con no más de 6 meses de antigüedad.	_____
pH A 25°C	6.0 a 6.8. Medir en solución al 5 %.	potenciométrico (utilizando electrodo de vidrio)
viscosidad	2800 a 3800 cp	Brookfield (aguja #3 y vel= 30 rpm, dejar estabilizar la lectura y después de 30 seg. a 1 min. registrar la lectura)
presencia de proteína hidrolizada	coloración violeta.	identificación
contenido de Lauril Eter Sulfato de Sodio	27 a 32 %	ensayo
contenido de agua.	70 a 75 %	Azeotrópico (destilación con tolueno)
cuenta microbiana (mesófilos)	0 UFC	Tripticaseína y Sabraud

CAPITULO IX.

CONCLUSIONES

En base a la información compilada, se puede concluir que debido a sus cualidades el uso y aplicación del colágeno, en el ramo de la cosmetología se están viendo cada día incrementadas como un ingrediente activo principal en preparaciones cosméticas, ya que logra la satisfacción del ser humano para verse y sentirse bien con resultados palpables; siendo un campo de explotación y aceptación en el mundo de los cosméticos.

Es apreciable también que el colágeno puede combinarse con un gran número de ingredientes dentro de diversas formulaciones, lo que amplía la gama de productos que se pueden crear, siendo la limitante en este campo sólo la imaginación e iniciativa del químico cosmetólogo.

Es palpable que el colágeno en el cabello penetra sin ningún problema y mejora rápidamente su condición, siendo la respuesta y la alternativa para un amplio sector de la población mundial, que de una u otra forma presenta algún padecimiento capilar.

En el presente trabajo se realizó la optimización de una formulación de shampoo, que incorpora además de buena detergencia y acción acondicionadora, excelentes cualidades para el cabello dándole mayor resistencia, suavidad y manejabilidad. Se incrementa todavía su acción, mediante el protector contra los rayos solares y el producto redondea su impacto mercadológico, ofreciendo una forma de presentación que sirve para todo tipo de cabello y para uso continuo de todos los miembros de la familia.

Un campo aún no explotado en su totalidad y que representa un alto potencial de perspectivas y comercialización son los cosméticos para caballeros, proporcionando así el colágeno una opción para el desarrollo de nuevos productos en dicha área.

CAPITULO X.

BIBLIOGRAFIA.

1. Riso R., Kritchevsky T. y Denney D.
PROTEIN DERIVATIVES SUBSTANTIVITY TO HUMAN HAIR USING TRITIUM
TAGGED POLYPEPTIDES.
Stepan Chemical Company (jul 1970)
2. Información de Bioextracto S.A. de C.V.
LIPOSOMAS.
3. Información de Glucosa S.A.
PEPTAMIN-C. PEPTONA DE COLAGENO.
4. Información de Henkel S.A.
NUTRILAN L Y NUTRILAN I-50. (mar 1990)
5. Información técnica de Alberto Gironella S. A.
COLLAGEN No. RICH - 444.
6. Información de Pentapharm.
COLLAGENE COSMETIQUE.
7. Información de Química Interamericana S. A.
NORDA BRIEFS. No. 478 (ene 1977)
8. Información de Croda Inc.
CRODATA. (jun 1989)
9. Riso R.
PROTEIN DERIVATIVES. NEWER APPLICATIONS IN AEROSOLS AND
COSMETICS.
Stepan Chemical Company, Reimpreso por Epoca del Aerosol (abr
1967)
10. Karjala S., Johnsen L. y Chiostri R.
SUBSTANTIVE PROTEIN IN COSMETICS.
Am. Perfumer and Cosmet., B2, 53-57 (oct 1967)

11. Karjala S., Bouthilet J. y Williamson J.
SOME FACTORS AFFECTING THE SUBSTANTIVITY OF PROTEINS TO HAIR.
Proc. Sci. Soc. Toilet Goods Ass., 45, 6-7 (may 1966)
12. SOLUBLE COLLAGEN VS. INSOLUBLE COLLAGEN.
Collagen CLR Berlin
Soap, Perfumery and Cosmet., 46, 10 (ene 1973)
13. Cooperman E. y Johnsen L.
PENETRATION OF PROTEIN HYDROLYSATES INTO HUMAN HAIR STRANDS.
Cosmet. and Perfumery, 88, No. 7, 19-23 (jul 1973)
14. Alexander P.
USE OF NATURAL PRODUCTS IN COSMETIC AND TOILETRY PREPARATIONS.
Cosmet. and Perfumery, 88, No. 9, 35-42 (sep 1973)
15. LA PIEL PROTECTORA Y RECEPTORA.
Perfumería Moderna, No. 163, 34-39 (dic 1982)
16. LOS BENEFICIOS DE LOS COSMETICOS.
Perfumería Moderna, No. 168, 69-76 (may 1983)
17. Gutiérrez D.
¿ QUE ES UN COSMETICO ?
Perfumería Moderna, No. 263, 40 (abr 1986)
18. Morales E.
EL SUDOR... UN INEVITABLE COMPAÑERO.
Perfumería Moderna, No. 236, 34-38 (ene 1989)
19. LA COLAGENA UNA PROTEINA HUMECTANTE.
Perfumería Moderna, No. 252, 32-35 (may 1990)
20. COLASFERAS MICROCAPSULAS PERFECTAMENTE BIOCOMPATIBLES.
Perfumería Moderna, No. 252, 35-36 (may 1990)
21. Chester J.
THE FUNCTION OF COSMETIC COMPONENTS.
Perfumery and cosmet, 46, No. 4, 205-209 (abr 1973)

22. Barocio F.
DERIVADOS PROTEINICOS PARA COSMETICA.
Ciencia y Tecnología Cosmética, No. 9, 17-30 (sep 1988)
23. Parente E., Villamil E., Martínez G. y cols.
ABSORCION POR LA PIEL DE COLAGENO SOLUBLE: SU ESTUDIO MEDIANTE COLAGENO I¹²⁵. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DE LA PROTEINA DURANTE IODACION Y ALMACENAMIENTO.
Ciencia y Tecnología Cosmética, No. 14, 7-17 (may 1990)
24. Vecchiarelli L.
PARA TENER ESA BOCA PERFECTA.
Cosmopolitan de México, No. 9, 42 (sep 1991)
25. LA CONSTITUCION BIOQUIMICA DE LA PIEL Y SU VARIACION CON LA EDAD.
LA ESTRUCTURA DEL CABELLO.
LA PIEL COMO ORGANO DE PENETRACION Y DE RESORCION.
Noticosméticos, No. 1, 3-8 (sep 1977)
26. Mausner J.
HUMECTACION.
Noticosméticos, No. 3, 1-2 (jul 1979)
27. Caballero C.
ENVEJECIMIENTO DE LA PIEL.
Horizonte Cosmético, No. 1, 3-5 (jul 1990)
28. Pajaujis D.
PERFUME AND SHAMPOOS.
Drug and Cosmetic Ind., 112, No. 4, 42-45 (abr 1973)
29. SOLUBLE COLLAGEN.
Drug and Cosmetic Ind., 112, No. 11, 527-530 (nov 1974)
30. Johnsen L.
PROTEINS IN COSMETIC AND TOILETRIES.
Drug and Cosmetic Ind., 126, No. 6, 36-39 (jun 1980)

31. Idson B.
NEW OPORTUNITIES FOR SKIN CARE INGREDIENTS.
Drug and Cosmetic Ind., 128, No. 1, 36-37 (ene 1981)
32. Goldemberg R.
SKIN TREATMENT.
Drug and Cosmetic Ind., 132, No. 20, (abr 1983)
33. Goldemberg R.
COSMETIC EFFECTS,
Drug and Cosmetic Ind., 132, No. 18, (may 1983)
34. Idson B.
DEVELOPMENTS IN SKIN CARE PRODUCTS.
Drug and Cosmetic Ind., 132, 28-30 (may 1983)
35. Información de Gattefossé.
Drug and Cosmetic Ind., 135, No. 3, 21 (sep 1984)
36. Idson B.
NATURAL MOISTURIZERS FOR COSMETICS.
Drug and Cosmetic Ind., 136, No. 5, 24-26 (may 1985)
37. Idson B.
PERCUTANEOUS ABSORTION ENHANCERS.
Drug and Cosmetic Ind., 137, 30-34 (jul 1985)
38. Muller C.
PREVENTION OF SKIN CANCER AND SUN DAMAGE.
Drug and Cosmetic Ind., 138, 44-46 (may 1986)
39. Davis D.
FDA HITS SKIN CARE, ZAPS COLOR SUNSCREEN.
Drug and Cosmetic Ind., 140, 28-32 (jun 1987)
40. Brooks G.
PROTEINS AS CATIONIC POLYMERS I: CATIONIC PROTEINS.
Drug and Cosmetic Ind., 140, 41-46 (may 1987)

41. Idson B.
FORMULATION FOR TREATMENT OF AGING SKIN PROBLEMS.
Drug and Cosmetic Ind., 142, 36-38 (ene 1988)
42. Karjala S., Williamson J. y Karler A.
STUDIES ON THE SUBSTANTIVITY OF COLLAGEN-DERIVED POLYPEPTIDES
TO HUMAN HAIR.
J. Soc. Cosmet. Chem., 17, 511-521 (ene 1966)
43. Karjala S., Williamson J. y Karler A.
THE EFFECT OF pH ON THE SORPTION OF COLLAGEN-DERIVED PEPTIDES
BY HAIR.
J. Soc. Cosmet. Chem., 18, 599-608 (sep 1967)
44. Packman E. y Gans E.
TOPICAL MOISTURIZERS: QUANTIFICATION OF THEIR EFFECT ON
SUPERFICIAL FACIAL LINES.
J. Soc. Cosmet. Chem., 29, 79-90 (feb 1978)
45. Rigby B.
AGING PATTERNS IN COLLAGEN IN VIVO AND IN VITRO.
J. Soc. Cosmet. Chem., 34, 439-451 (dic 1983)
46. Black-Haskins J., Scala D., Rhein D. y Robbins C.
PREDICTING SURFACTANT IRRITATION FROM THE SWELLING RESPONSE OF
A COLLAGEN FILM.
J. Soc. Cosmet. Chem., 37, No. 4, 199-210 (jul 1986)
47. Johnsen L.
INNOVATION IN PROTEIN PRODUCTS AND TECHNOLOGY
Cosmet. and Toilet., 92, No. 12, 29-36 (dic 1977)
48. Johnsen L. y Chiostri R.
PROTEIN HYDROLYSATES AS MOISTURIZERS.
Cosmet. and Toilet., 93, No. 3, 83-84 (mar 1978)
49. Parrish D.
DIFFERENCE BETWEEN SOLUBLE COLLAGEN AND HYDROLYSED COLLAGEN
(GELATIN) PROTEINS.
Cosmet. and Toilet., 93, No. 4, 63-65 (abr 1978)

50. Reng A.
FORMULATION OF SHAMPOO PREPARATION WITH SPECIAL PROPERTIES.
Cosmet. and Toilet., 23, No. 8, 21-32 (ago 1978)
51. Senma M. y Sasaki M.
AGING OF SKIN-CHANGES OF THE DERMAL CONNECTIVE TISSUE.
Cosmet. and Toilet., 23, No. 9, 29-36 (sep 1978)
52. Schoenberg T. y Scafidi A.
ROLE OF ALKYLAMINOAMINE SALTS IN THE MODERN HAIR CONDITIONER.
Cosmet. and Toilet., 24, No. 3, 57-64 (mar 1979)
53. Breuer M., Gikas G. y Smith T.
PHYSICAL CHEMISTRY OF HAIR CONDITION.
Cosmet. and Toilet., 24, No. 4, 29-35 (abr 1979)
54. Goode S.
HAIR POMADES.
Cosmet. and Toilet., 24, 71-75 (abr 1979)
55. Riemschneider R. y Chik W.
COLLAGEN SOLUTIONS.
Cosmet. and Toilet., 24, No. 5, 61-64 (may 1979)
56. Brooks G.
USE OF PROTEIN IN BATH AND SHOWER PRODUCTS.
Cosmet. and Toilet., 24, No. 7, 82-85 (jul 1979)
57. Scafidi A. y Neghme B.
PROTEIN HYDROLYSATES AND CONDENSATES IN CREAMS AND LOTIONS.
Cosmet. and Toilet., 25, No. 4, 65-72 (abr 1980)
58. Lauffer P.
NEW KEYS TO COSMETIC CHEMISTRY I-1981.
Cosmet. and Toilet., 26, No. 2, 33-47 (feb 1981)
59. Rieger M.
CURRENT ASPECTS OF COSMETIC SCIENCE III. LIPOSOMES AND THEIR USES.
Cosmet. and Toilet., 26, No. 8, 35-38 (ago 1981)

60. Marklant W.
EYE IRRITATION TESTING OF SHAMPOOS.
Cosmet. and Toilet., 96, No. 9, 40-42 (sep 1981)
61. Stern E. y Johnsen L.
COSMETIC PROTEINS. A NEW GENERATION.
Cosmet. and Toilet., 92, No. 5, 76-84 (may 1983)
62. Lauffer P.
NEW KEYS TO COSMETIC CHEMISTRY II-1984.
Cosmet. and Toilet., 92, No. 5, 61-92 (may 1984)
63. FORMULARY PART II.
Cosmet. and Toilet., 95, No. 4, (abr 1980)
64. Potts R.
IN VIVO MEASUREMENT OF WATER CONTENT OF THE STRATUM CORNEUM
USING INFRARED SPECTROSCOPY: A REVIEW.
Cosmet. and Toilet., 100, No. 10, 27-32 (oct 1985)
65. MEN'S PRODUCTS FORMULARY.
Cosmet. and Toilet., 100, No. 11, 78-100 (nov 1985)
66. Fox Ch.
THE NATURAL: A LITERATURE AND PATENT REVIEW.
Cosmet. and Toilet., 102, 27-48 (jun 1987)
67. Rieger M.
SKIN PENETRATION REVISITED.
Cosmet. and Toilet., 103, 69-76 (feb 1988)
68. Idson B.
POLYMERS IN SKIN COSMETICS.
Cosmet. and Toilet., 103, 63-68 (dic 1988)
69. Lohead R.
THE HISTORY OF POLYMERS IN HAIR CARE (1940-PRESENT).
Cosmet. and Toilet., 103, 23-61 (dic 1988)

70. Chester J. y Gorley K.
 FACIALS THE FACTS. PART I.
 Manuf. Chem., 60, No. 4, 42-47 (abr 1989)
71. Chester J. y Gorley K.
 FACIALS THE FACTS. PART II.
 Manuf. Chem., 60, No. 5, 62-66 (may 1989)
72. Rieger M.
 FACTORS AFFECTING SORPTION OF TOPICALLY APPLIED SUBSTANCES.
 Cosmet. and Toilet., 106, No. 1, 127-140 (ene 1991)
73. Lintermans G.
 LO MAS NUEVO EN CIRUGIA PLASTICA PARA ARRUGAS.
 Sección Acentué su belleza, Excelsior (oct 1990)
74. Compilación.
 LO QUE DEBEMOS SABER PARA CUIDAR LA PIEL.
 Selecciones del Reader's Digest, 49-54 (ago 1986)
75. Paz J.
 EL COLAGENO EN COSMETICA.
 Conferencia del Colegio de Químicos de Madrid (mar 1978)
76. Briceno E.
 ENVEJECIMIENTO CUTANEO: MANIFESTACIONES CLINICAS.
 Segundas Jornadas Nacionales de Ciencia Cosmética, Venezuela
 (jul 1990)
77. DERIVADOS PROTEINICOS PARA COSMETICA.
 Memorias del Cuarto Congreso Nacional, de Cosmética, México
 (may 1990)
78. Martindale.
 THE EXTRA PHARMACOPEIA.
 The Pharmaceutical Press, 27ava. edición, Gran Bretaña 1977.
79. THE MERCK INDEX, AN ENCYCLOPEDIA OF CHEMICALS, DRUGS AND
 BIOLOGICALS.
 Merck y Co. Inc. 10a. edición, Estados Unidos, 1983.

80. Helman J.
FARMACOTECNIA TEORICA Y PRACTICA.
Compañía Editorial Continental, 4a. impresión, Tomo VII, México
1984.
81. Difiore R. y Mancini R.
NUEVO ATLAS DE HISTOLOGIA.
Editorial El Ateneo, Argentina, 1976.
82. Houssay B.
FISIOLOGIA HUMANA.
Editorial El Ateneo, 5a. edición, Argentina, 1980.
83. Martin E., Cook E. y cols.
FARMACIA PRACTICA DE REMINGTON.
Editorial Médica Panamericana, 17ava. edición, Tomo I y II,
Argentina, 1987.
84. Murray R. y Granner D.
BIOQUIMICA DE HARPER.
Editorial El Manual Moderno, 11ava. edición, México, 1988.
85. Veis A.
THE MACROMOLECULAR CHEMISTRY OF GELATIN.
Academic Press, Colection Molecularl Biology, Volumen 5,
Estados Unidos, 1964.
86. White A. y Handler P.
PRINCIPIOS DE BIOQUIMICA.
Editorial Mc Graw Hill, 6a. edición, España, 1983.
87. Winnacker K. y Weingaertner E.
QUIMICA INDUSTRIAL ORGANICA.
Editorial Gustavo Gili, Colección Tegnologia Química, Tomo V,
España, 1961.
88. Berlitz D.
QUIMICA DE LOS ALIMENTOS.
Editorial Acribia, 2a. edición, España, 1988.

89. de Gruyter W.
CONCISE ENCYCLOPEDIA OF BIOCHEMISTRY.
English Language Edition, Alemania, 1983.
90. Hampel C. y Hawley G.
THE ENCYCLOPEDIA OF CHEMISTRY.
Van Nostrand Reinhold Company, 3a. edición, Estados Unidos,
1973.
91. Clarke G. y Gessner G.
THE ENCYCLOPEDIA OF CHEMISTRY.
Reinhold Publishing Corporation, Estados Unidos, 1960.
92. Badui S.
QUIMICA DE LOS ALIMENTOS.
Editorial Alhambra Mexicana, México, 1982.
93. Trease G. y Evans W.
TRATADO DE FARMACOGNOSIA.
Nueva Editorial Interamericana, 12ava. edición, México, 1987.
94. Bohinski R.
BIOQUIMICA.
Editorial Fondo Educativo Interamericano, México, 1985.
95. Yudkin M. y Offord R.
BIOQUIMICA.
Ediciones Omega, España, 1976.
96. Tortora A.
PRINCIPIOS DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA.
Editorial Harla, 3a. edición, México, 1987.
97. Greep R. y Weis L.
HISTOLOGIA.
Editorial El Ateneo, 3a. edición, España, 1978.
98. Stainsby G.
RECENT ADVANCES IN GELATIN AND GLUE RESEARCH.
Pergamon Press, Gran Bretaña, 1958.

99. Quiroga M. y Guillot C.
COSMETICA DERMATOLOGICA PRACTICA.
Editorial El Ateneo, 5a. edición, Argentina, 1986.
100. Wilkinson J. y Moore J.
HARRY'S COSMETOLOGY.
Chemical Publishing, 7a. edición, Estados Unidos, 1982.
101. Krieger R.
THE CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF LEATHER.
Publishing Company, Volumen II, Estados Unidos, 1978.
102. Hawley G.
THE CONDENSED CHEMICAL DICTIONARY.
Van Nostrand Reinhold Company, 11ava. edición, 1987.
103. Gay Prieto J.
DERMATOLOGIA.
Editorial Científico Médica, 5a. edición, España, 1961.
104. Ham A.
TRATADO DE HISTOLOGIA.
Editorial Interamericana, 7a. edición, México, 1977.
105. Parrish J.
DERMATOLOGIA.
Editorial El Manual Moderno, México, 1982.
106. Valdecasas F., Laporte J. y Salva J.
BASES FARMACOLOGICAS DE LA TERAPEUTICA MEDICAMENTOSA.
Salvat Editores, España, 1975.
107. Meyers F., Jawertz E. y Goldfien A.
MANUAL DE FARMCOLOGIA CLINICA.
Editorial El Manual Moderno, 4a. edición, México, 1980.
108. Levane R.
FARMACOLOGIA. ACCIONES Y REACCIONES MEDICAMENTOSAS.
Salvat Editores, España, 1982.

109. Stryer L.
BIOQUIMICA.
Editorial Reverté, 2a. edición, España, 1985.
110. Bhagavan N.
BIOQUIMICA.
Editorial Interamericana, 1a. reimpresión, México, 1979.
111. da Fonseca A. y Nogueira L.
MANUAL DE TERAPEUTICA DERMATOLOGICA Y COSMETOLOGIA.
Editorial JIMS, 1a. edición, España, 1987.
112. Harper A.
MANUAL DE QUIMICA FISIOLÓGICA.
Editorial El Manual Moderno, 4a. edición, México, 1975.
113. Goodman A. y Goodman L.
BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPEUTICA.
Editorial Médica Panamericana, 6a. edición, México, 1984.
114. Balsam S. y Sagarin E.
COSMETICS SCIENCE AND TECHNOLOGY.
Wiley Interscience, 2a. edición, Volumen 2, Estados Unidos,
1972.
115. Gessner H.
THE CONDENSED CHEMICAL DICTIONARY.
Van Norstrand Reinhold Company, Estados Unidos, 1976.
116. Thorpe W. y Sybil J.
BIOQUIMICA.
Editorial CECSA, 3a. impresión, México, 1971.
117. Vincent P.
EL CUERPO HUMANO.
Editorial Reverté, España, 1981.
118. Gardner E.
ANATOMIA. ESTUDIO POR REGIONES DEL CUERPO HUMANO.
Salvat Editores, 2a. edición, España, 1971.

119. Morrison T. y Cornett F.
FISIOLOGIA HUMANA.
Editorial CECSA, 1a. edición, México, 1970.