



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

34
24

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

DISEÑO Y EVALUACION DE UN SISTEMA
COSMETICO A BASE DE FOSFOLIPIDOS.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
ISRAEL HERNANDEZ VALDEPEÑA

DIRECTORES: OFB ABELARDO CHAVEZ MONTES
OFB EDGAR AGUILERA CERON

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN



UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAINE KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FEB-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E .

AT°N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Diseño y Evaluación de un Sistema Cosmético a base de Fosfolípidos.

que presenta el pasante: Israel Hernández Valdepeña
con número de cuenta: 9056987 - 2 para obtener el TÍTULO de:
Químico Farmacéutico B16logo

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 4 de Noviembre de 1996

PRESIDENTE M. en C. Vicente Alonso Pérez
VOCAL M. en C. Elizabeth Toriz García
SECRETARIO Q.F.B. Abelardo Chávez Montes
PRIMER SUPLENTE D.E.S.S. Rodolfo Cruz Rodríguez
SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Efrén Hernández Baltazar

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la U.N.A.M. y su Facultad de Estudios Superiores - Cuautitlán, por haberme dado una formación académica profesional.

A mi jurado, por sus valiosas aportaciones para la culminación de éste trabajo.

M. en C. Vicente Alonso Pérez
M. en C. Elizabeth Toriz García
M. en C. Efrén Hernández Baltazar

Al D.E.S.S. Rodolfo Cruz Rodríguez, agradezco su amistad y valioso apoyo en la realización de éste trabajo.

De una manera muy especial al Q.F.B. Abelardo Chávez Montes mi director de tesis, quiero agradecerle su confianza, apoyo y orientación para la realización de este trabajo; así como también, quiero agradecerle su amistad y los consejos que me dió.

Al Q.F.B. Edgar Aguilera Cerón, por que sin conocerme me brindó la ayuda que le pedí, le agradezco todas sus asesorías, apoyo y tiempo que me dedicó.

De manera especial al Q.F.B. David Quintanar Guerrero, gracias por su amistad y la orientación al inicio de éste trabajo.

A cada uno de los profesores que durante mi carrera se preocupó en mi formación:

Rafael Sampere
Guadalupe Sevilla
Enrique Angeles
Adriana Morales
Carolina Moreno
Francisco López
Jorge Torres
Stella Maris
María Eugenia Posadas

Gerardo Cruz
Efrén Hernández
Rodolfo Cruz
Elizabeth Toriz
Leticia Zúñiga
José Garduño
Rafael Villalobos
Adriana Gáñem
David Quintanar

Quiero agradecer al Técnico Rodolfo Robles, de Microscopía Electrónica la asesoría técnica prestada.

A la Dra. Susana Mendoza Elvira, por el apoyo que me brindó al trabajar en su laboratorio.

A la Q.F.B. Carolina Moreno, por la ayuda que me prestó en la realización de mi trabajo.

Al Ing. Alberto Aristóteles Zárate, le agradezco la asesoría técnica en la elaboración del aparato Iontoforético de liberación.

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo a mis padres, *Augusto* y *María Luisa*, por que son ellos los que han contribuido a lo largo de mi vida a formarme como persona y a darme una educación; gracias a tí padre por tu apoyo, confianza y tus enseñanzas que contribuyen a mi formación personal; a tí madre que día con día me inculcas el deseo de superación y me motivas a seguir adelante, gracias por confiar en mí. Los quiero a ambos.

A mis hermanos *Ana María* y *Ulises*, por su apoyo y por los momentos inolvidables que hemos pasado juntos.

A mis sobrinos *Arturo* y *Mario Eduardo*, por que éste trabajo sea un ejemplo a seguir.

A tí *Mi*, por tu apoyo y comprensión gracias por ser como eres.

A mis tíos *Estela* y *Carlos*, por el apoyo que me han dado durante mi estancia en su casa.

A mis amigos de Química Orgánica, por todas las facilidades prestadas y la amistad que me profesaron, muy en especial al profesor Enrique Angeles a Nacho, Beto, Enrique, Bernardo e Iván.

A mis amigos y compañeros de laboratorio de Tecnología Farmacéutica.

A Sergio, Abelardo, Rafael y Claudia

A mis amigos de generación, muy en especial a Gerardo M., Rogelio, J. Antonio, Ernesto, Gerardo, Víctor, Antonio, Fernando, Ramón y Daniel; por todos los momentos que pasamos juntos durante la carrera.

A todos y cada uno de mis amigos que sin omitirlos participaron de un modo o de otro en la culminación de mi trabajo.

INDICE

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	iii
I. INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	2
II. GENERALIDADES	3
2.1 Piel	3
2.1.1 Capas de la Piel	3
2.2 Membranas Biológicas	5
2.2.1 Características comunes de las Membranas Biológicas	5
2.2.2 Fosfolípidos en Membrana	6
2.2.3 Modelo de mosaico fluido de las Membranas Biológicas	7
2.3 Principales causas en la aparición de arrugas	9
2.3.1 Procesos oxidativos en la piel	9
2.3.2 Teoría de los Radicales Libres	10
2.3.3 Antioxidantes	11
2.3.4 Compuestos Sulfhidrilo	12
2.4 Absorción Percutánea	14
2.4.1 Mecanismos de Absorción Percutánea	14
2.5 Sistemas Terapéuticos de Liberación Controlada	15
2.5.1 Sistemas Transdérmicos de Liberación Controlada	16
2.6 Sistemas Iontoforético de Liberación	16
2.6.1 Componentes de un Sistema Iontoforético de Liberación in vitro	17
2.6.2 Principales factores que influyen en la velocidad de permeación durante la Iontoforesis	18
2.6.3 Mecanismos de permeación por Iontoforesis	19
2.7 Humectación y Emoliencia	20
2.8 Fosfatidilcolina	20
III. PARTE EXPERIMENTAL	22
3.1 Equipo	22
3.2 Reactivos	22
3.3 Material Biológico	23
3.4 Evaluaciones previas	23
3.4.1 Evaluación del Aparato Iontoforético de Liberación	23
3.4.2 Electroforesis de la fosfatidilcolina en el sistema propilen glicol/agua/etanol (14/8/78)	24

3.5 Métodos	24
3.5.1 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos	24
3.5.2 Evaluación de la Absorción Percutánea con solventes no polares	25
3.5.3 Evaluación de la Absorción Percutánea con promotores polihídricos y etanol	25
3.5.4 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos promovida por Iontoforesis	26
3.5.5 Evaluación de la Absorción Percutánea en promotores polihídricos y etanol inducida por Iontoforesis	26
IV. RESULTADOS	27
4.1 Evaluaciones previas	27
4.1.1 Evaluación del Aparato Iontoforético de Liberación	27
4.1.2 Electroforesis de la fosfatidilcolina en el sistema propilen glicol/agua/etanol (14/8/78)	29
4.2 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos	29
4.3 Evaluación de la Absorción Percutánea con solventes no polares	30
4.4 Evaluación de la Absorción Percutánea con promotores polihídricos y etanol	30
4.5 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos promovida por Iontoforesis	31
4.6 Evaluación de la Absorción Percutánea en polihídricos y etanol, inducida por Iontoforesis	31
4.7 Análisis de los Cortes Histológicos	35
V. DISCUSION	40
5.1 Sistema Iontoforético de Liberación	40
5.2 Sistema Electrónico	40
5.3 Sistema de Electrodo	40
5.4 Piel	41
5.5 Evaluación de la eficiencia, entre el proceso Iontoforético y un Mecanismo Pasivo	41
5.6 Sistema Iontoforético con polihídricos y etanol	42
VI. CONCLUSIONES	44
VII. REFERENCIAS	45

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

I.- Unidades hidrofóbicas e hidrofílicas de lípidos de membrana	7
II.- Antioxidantes enzimáticos y no-enzimáticos presentes en la dermis y en la epidermis.	12
III.- Valores de cantidad permeada, para los experimentos con y sin Iontoforesis	27
IV. Datos de las concentraciones calculadas a diferentes tiempos, sobre el compartimento receptor y el compartimento donador. Permeación en sistema acuoso Etanol/Agua (25/75).	29
V. Valores de la cantidad inicial y final de fosfatidilcolina en el compartimento donador, así como el porcentaje absorbido en piel a las 48 horas.	30
VI. Datos de concentración, cantidad inicial y final, así como el porcentaje absorbido en piel.	30
VII. Datos de concentración de fosfatidilcolina a diferentes tiempos en el compartimento donador.	31
VIII. Datos de cantidad absorbida a diferentes tiempos, así como también el porcentaje absorbido en piel para cada tiempo.	33

FIGURAS

1.- Estratos de la epidermis	4
2.- Modelo de mosaico fluido para membranas biológicas	8
3.- Daño de radicales libres a la membrana celular	13
4.- Sitios de penetración a través de piel	19

5.- Gráfico de cantidad permeada en función del tiempo para los estudios de Naproxén Sódico, con y sin Iontoforesis	28
6.- Gráfico de cantidad absorbida contra tiempo para el experimento de absorción percutánea en polihídricos y etanol, inducida por Iontoforesis	33
7.- Gráfico de ln de cantidad absorbida contra tiempo, para el ensayo de la absorción percutánea de la fosfatidilcolina en polihídricos y etanol, inducida por Iontoforesis	34
8.- Microscopía de contraste de fases para los cortes de piel utilizados en el mecanismo pasivo. A y B Control sin tratamiento a 100 y 400x, C y D Control tratado solamente con el promotor a 100 y 400x, E y F Piel tratada en la absorción percutánea con fosfatidilcolina en miristato de isopropilo a 100 y 400x	36
9.- Microscopía de contraste de fases de los cortes empleados en el mecanismo pasivo, vistos a 1000x. Corte A corte de piel sin tratamiento; Corte B control tratado con el promotor y C Corte de piel tratada con fosfatidilcolina en miristato de isopropilo	37
10.- Microscopía de contraste de fases, para el corte de piel tratada por el proceso de Iontoforesis. A Piel sin tratamiento (100x), B Piel con tratamiento (100x), C Piel sin tratamiento (400x) y D Piel con tratamiento (400x)	38
11.- Microscopía de contraste de fases para el corte de piel tratada por el proceso de Iontoforesis (1000x)	39

I. INTRODUCCION

El mejoramiento de la apariencia y el embellecimiento personal, han sido a través de los años, motivos de gran interés para el ser humano; ambos, son factores de singular importancia para un gran sector de las sociedades industrializadas.

La edad de la piel, es un factor psicológico para la mayoría de las personas, ya que de una manera psicológica, minimiza la imagen misma del individuo y su autoestima; se piensa que una piel joven, contribuye a la belleza y la aceptación social de una persona, aunque esta psicología social es enteramente aparente.⁽¹⁾

Uno de los grandes mercados dentro de la industria cosmética, está precisamente enfocado, hacia productos que retarden o disminuyan los efectos del envejecimiento. En investigaciones cosméticas, se han estado desarrollando novedosos productos que ayudan a retardar estos efectos, como ejemplo podemos mencionar los elaborados a base de liposomas; el uso de liposomas en sistemas dérmicos como acarreadores de substancias de uso cosmético, como lo son las vitaminas E, A y los hidrolizados de colágena y elastina, han contado con una gran aceptación dentro de este mercado,^(2,3,4,5,6,7,8,9,10) de manera reciente, el empleo de compuestos con función antioxidante como lo son el α -tocoferol y los β -carotenos son útiles en procesos de envejecimiento prematuro, el cuál es provocado por la acción de radicales libres generados por el efecto que tienen los rayos UV en la piel, estos productos han contado con una gran difusión dentro de formulaciones cosméticas.^(1,11,12,13)

El uso de promotores de absorción en estos sistemas, es otro camino a seguir dentro de las investigaciones realizadas; sistemas a base de etanol y agua, promotores tales como el propilen glicol, el sorbitol, la glicerina y el miristato de isopropilo han sido algunos de los vehículos utilizados para mejorar la absorción de compuestos con utilidad cosmética, por ejemplo a las vitaminas y los ácidos grasos.^(12,14,15,16,17,18)

Los fosfolípidos en formulaciones cosméticas ha contado con una gran difusión dentro de este mercado, siendo la fosfatidilcolina uno de los fosfolípidos con más uso dadas sus características de emoliente y humectante, además de ser elemento esencial en la formación de liposomas; esta característica de conformar compuestos semejantes en estructura a la membrana celular, lo hacen el componente idóneo para el diseño de un sistema cosmético que ayude a retardar los efectos del envejecimiento prematuro.

La realización de este trabajo, va enfocado principalmente en el desarrollo de un sistema de absorción a base de fosfolípidos, utilizando un sistema iontoforético de liberación como promotor de la absorción.

El empleo de la iontoforesis en este sistema, obedece a que este es un proceso mediante el cuál, se efectúa un incremento en la permeación de moléculas cargadas o neutras a través de una membrana por la aplicación de un gradiente de potencial eléctrico.

Objetivos.

.Objetivos generales.

- **Diseñar un sistema cosmético de absorción a base de Iontoforesis.**
- **Promover la absorción de fosfatidilcolina en piel, por medio de un sistema iontoforético.**

.Objetivos particulares.

- **Analizar las absorciones cutáneas de fosfolípidos, utilizando diferentes promotores de absorción y un sistema iontoforético.**
- **Evaluar la cinética de paso de la fosfatidilcolina para los diferentes sistemas; con promotores de absorción y con el uso de iontoforesis.**
- **Emplear cortes histológicos, para la detección de posibles cambios en la estructura de la piel sometida a un proceso de iontoforesis, además de usar la técnica de tinción de Baker en los mismos cortes, para la evaluación de la absorción de fosfatidilcolina mediante microscopía de contraste de fases.**

II. GENERALIDADES

2.1 Piel.

La piel es el perímetro de defensa del cuerpo; en el transcurso de la vida puede sufrir más daños físicos y químicos que cualquier otro órgano. La piel tiene una masa total mayor que la de cualquier otro órgano del cuerpo, consiste en dos capas unidas firmemente entre sí; la externa o epidermis se compone de epitelio queratinizado escamoso estratificado, y la dermis capa profunda de la piel, formada por tejido conectivo fibroelástico irregular.

La piel de un adulto promedio cubre más de 19 300 centímetros cuadrados de área de superficie, pesa alrededor de 4.300 kilogramos y recibe más o menos una tercera parte de toda la sangre que circula por el cuerpo. Es elástica, poco áspera y en condiciones ordinarias, se regenera por sí misma. La piel es casi totalmente impermeable, proporciona una barrera técnica estrechamente regulada y eficaz; participa en las funciones de evaporación del agua y regulación de la temperatura del cuerpo.^(1,19,20,21,22,23,24,25,26)

2.1.1 Capas de la piel.

1.- Epidermis

La epidermis o capa más externa de la piel, está compuesta de células epiteliales escamosas estratificadas, es más gruesa a medida que circunda las palmas de las manos y las plantas de los pies, y se hace más delgada en la cara ventral del tronco. La epidermis se compone de cinco capas, de la superficial a la profunda, y son: *estrato córneo* (capa córnea), *estrato lúcido* (capa transparente), *estrato granuloso* (capa granular), *estrato espinoso* (de células espinosas) y *estrato germinativo* (capa regenerativa).^(19,20,21,22,23,26) La figura 1 muestra los estratos que componen a la epidermis.

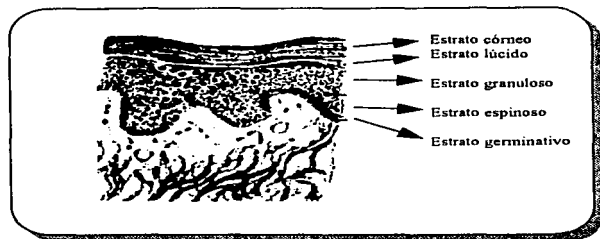


Figura 1.- Estratos de la epidermis.⁽²⁷⁾

El estrato córneo forma la capa más externa de epidermis y consta de células muertas llenas por completo de una proteína llamada queratina. En forma común se les llama células queratinizadas; como constantemente se están desprendiendo, necesitan ser renovadas. El estrato córneo se compone de 20% de agua, comparado con el 70% de agua del estrato germinativo. El estrato córneo está compuesto de células aplanadas parecidas a escamas, sirve como barrera física para las ondas de luz y de calor, microorganismos y la mayor parte de substancias químicas. El espesor de esta capa es determinado por la cantidad de estimulación de la superficie mediante abrasión y peso que soporta, por esto las palmas de las manos y las plantas de los pies se engruesan y se forman callos.^(23,27,28)

El estrato lúcido, está situado inmediatamente abajo del estrato córneo, y no se ve en la piel más delgada. Es una capa que tiene una a cinco células de espesor; consta de células aplanadas transparentes, muertas o desvitalizadas, que por lo general han perdido sus núcleos.

El estrato granuloso, de dos a cinco capas de células aplanadas, sirve de transición dentro del estrato germinativo. Los gránulos que se acumulan en las células dan a la capa su nombre; sin embargo, ellas no contribuyen al color de la piel. Se considera que el estrato granuloso es activo en la queratinización, un proceso en el cual las células pierden sus núcleos, se hacen más compactas y frágiles.

El estrato espinoso consta de varias hileras de células "espinosas" de forma poligonal. Las células más externas tienen forma de espina, y de ahí su nombre, células espinosas. En algunas clasificaciones esta capa se incluye con el estrato germinativo como la capa de Malpighi.

El estrato germinativo, la capa más profunda y más importante de la piel, contiene las únicas células de la piel capaces de efectuar división mitótica. Cuando las nuevas células son formadas, sufren cambios morfológicos y nucleares a medida que se mueven hacia la capa

más superficial. En forma simultánea, estas células dan origen a todas las capas externas de la epidermis. La epidermis se regenerará sólo mientras que el estrato germinativo permanezca intacto. La capa basal de estas células generativas descansan en la membrana basal, que ofrece más protección contra el medio ambiente.^(19,20,21)

2.- Dermis (corión)

La dermis o corión, que está situada inmediatamente abajo de la epidermis, se compone de tejido conectivo que contiene: fibras elásticas amarillas y colágenas blancas, vasos sanguíneos, nervios, vasos linfáticos, folículos pilosos y glándulas sudoríparas están encajados en la propia dermis. La dermis está dividida en porción papilar adyacente a la epidermis y porción reticular, situada entre la capa papilar y el tejido subcutáneo.^(20,21)

3.- Tejido subcutáneo

Es una lámina de tejido areolar, que suele contener grasa, y que se le conoce como tejido adiposo subcutáneo o aponeurosis superficial, une la dermis con las estructuras subyacentes.^(20,21)

2.2 Membranas Biológicas.

Las membranas biológicas son conjuntos laminares organizados constituidos principalmente por proteínas y lípidos; las membranas plasmáticas confieren a las células su individualidad de separarlas de su entorno, no son simples paredes, sino que constituyen barreras de permeabilidad muy selectivas que contienen sistemas de transporte, es decir, bombas y compuertas moleculares muy específicas. Estos sistemas de transportes regulan la composición iónica y molecular del medio interno.^(29,30,31)

2.2.1 Características comunes de las Membranas Biológicas.

1.- Las membranas son estructuras laminares, de pocas moléculas de grosor, que forman espacios cerrados entre compartimentos de distinta composición. El grosor de la mayoría de las membranas está comprendido entre 60 y 100 Å.

2.- Las membranas constan principalmente de lípidos y proteínas. La relación de pesos de proteína a lípido en la mayoría de las membranas biológicas abarca desde 1:4 a 4:1. Las membranas también contienen hidratos de carbono enlazados a lípidos y a proteínas.

3.- Los lípidos de membrana son moléculas relativamente pequeñas que tienen una parte hidrofílica y otra hidrofóbica. En medios acuosos, estos lípidos forman espontáneamente láminas bimoleculares cerradas. Estas bicapas lipídicas constituyen obstáculos al flujo de moléculas polares.

4.- Ciertas proteínas específicas son mediadoras de funciones características de las membranas. Las proteínas se utilizan como bombas, compuertas, receptores, transductores de energía y enzimas. Las proteínas de membrana están intercaladas en las bicapas lipídicas, las cuales crean un ambiente adecuado para la acción de estas proteínas.

5.- Las membranas constituyen asociaciones no covalentes. Las moléculas proteicas y lipídicas integrantes, se mantienen juntas por muchas interacciones no covalentes de carácter cooperativo.

6.- Las membranas son asimétricas. Las caras interna y externa son diferentes.

7.- Las membranas son estructuras fluidas. Las moléculas de lípidos difunden rápidamente en el plano de la membrana, igual que las proteínas, a menos que estén ancladas por interacciones específicas. En realidad, se puede considerar a las membranas como disoluciones bidimensionales de proteínas y lípidos orientados.^(29,30,31,32)

2.2.2 Fosfolípidos en Membrana.

Por definición, los lípidos son biomoléculas insolubles en agua que presentan solubilidad elevada en disolventes orgánicos como el cloroformo. Los lípidos tienen diferentes funciones biológicas, sirven como moléculas combustibles, como almacenes de energía altamente concentrada, como molécula señal, y como componentes de la membrana. Los tres tipos principales de lípidos de membrana son los fosfolípidos, los glicolípidos y el colesterol.

Los fosfolípidos son derivados del glicerol, un alcohol de tres carbonos, o de la esfingosina, un alcohol más complejo. Los derivados del glicerol se denominan fosfoglicéridos. Un fosfoglicérido está constituido por un esqueleto de glicerol, dos cadenas de ácidos grasos y un alcohol fosforilado.

Las cadenas de ácidos grasos en los fosfolípidos y glicolípidos contienen normalmente un número par de átomos de carbono, generalmente entre 14 y 24. Los ácidos grasos de 16 y 18 átomos de carbono son los más abundantes. En los animales, la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos no está ramificada.

Estos ácidos pueden ser saturados o insaturados. La configuración de los dobles enlaces en los ácidos grasos insaturados es casi siempre *cis*. En los fosfoglicéridos, los grupos hidroxilo en los C-1 y C-2 del glicerol están esterificados por dos grupos carboxilo de dos cadenas de ácido graso. El grupo hidroxilo del C-3 del esqueleto del glicerol se esterifica con ácido fosfórico.

El compuesto resultante, denominado fosfatidato (o diacilglicerol-3-fosfato), es el fosfoglicérido más simple. En las membranas están presentes solamente pequeñas cantidades de fosfatidato. Sin embargo, es un intermediario clave en la biosíntesis de otros fosfoglicéridos. La mayoría de los fosfoglicéridos son derivados del fosfatidato. El grupo fosfato del fosfatidato se esterifica con el grupo hidroxilo de uno o varios alcoholes. Los alcoholes comunes de los fosfoglicéridos son la serina, etanolamina, colina, glicerol e inositol.

La variedad de lípidos de membranas es extensa; sin embargo, todos ellos tienen en común una característica muy importante: los lípidos de membrana son moléculas anfipáticas, contienen a la vez una parte hidrofílica y otra hidrofóbica. En la tabla 1 se muestran las unidades hidrofóbicas e hidrofílicas de los lípidos de membrana.⁽³²⁾

Lípido de membrana	Unidad hidrofóbica	Unidad hidrofílica
Fosfoglicéridos	Cadenas de ácidos grasos	Alcohol fosforilado
Esfingomiclina	Cadena de ácido graso y cadena hidrocarbonada de esfingosina	Fosforilcolina
Glicolípidos	Cadena de ácido graso y cadena hidrocarbonada de esfingosina	Uno o más residuos de azúcar
Colesterol	Molécula completa excepto el grupo OH	Grupo OH en C-3

Tabla 1.-Unidades hidrofóbicas e hidrofílicas de lípidos de membrana.

2.2.3 Modelo de mosaico fluido de las Membranas Biológicas.

En 1972 S.Jonathan Singer y Garth Nicolson propusieron un modelo de mosaico fluido para explicar la organización fundamental de las membranas biológicas. Lo esencial de este

modelo es que las membranas son disoluciones bidimensionales de proteínas globulares y lípidos orientadas, tal y como se observa en la figura 2.^(4,29,30,31,32)

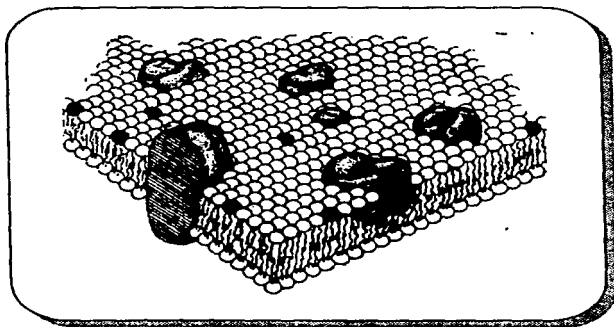


Figura 2.- Modelo de mosaico fluido para membranas biológicas.⁽⁴⁾

Los aspectos principales de este modelo son:

- 1.- La mayoría de las moléculas de fosfolípidos y glicolípidos de membrana están en forma de bicapa. Esta bicapa lipídica tiene un doble papel: es a la vez un disolvente para las proteínas integrales de la membrana y también una barrera de permeabilidad.
- 2.- Una pequeña proporción de los lípidos de las membranas interactúan específicamente con determinadas proteínas y pueden ser esenciales para la función de éstas.
- 3.- Las proteínas de las membranas pueden difundir lateralmente en la matriz lipídica a menos que queden restringidas por interacciones especiales, mientras que no son libres para girar de un lado de la membrana al otro.^(29,30,31)

2.3 Principales causas en la aparición de arrugas.

La piel humana es un órgano con varias funciones y una compleja estructura, como tal metaboliza, sintetiza, regula el calor, actúa como órgano sensorial y provee un soporte para los órganos internos. Con el incremento de la edad muchos otros órganos semejantes, pierden su vitalidad, flexibilidad, firmeza y elasticidad, dándose lugar en el caso de la piel a la formación de arrugas.

Las arrugas, son las depresiones sobre la superficie de la piel, generadas principalmente, por atroñas dérmicas de tensión y elasticidad, cambios degenerativos en la vascularización, reducción en la síntesis y metabolismo de componentes esenciales para su funcionamiento, además de la disminución de la capacidad de retención de agua del estrato córneo y su consecuente sequedad⁽¹⁾; es adecuado resaltar la importancia que tiene la deficiencia de ácidos grasos esenciales, parece ser que el ácido linoleico, que debe obtenerse enteramente de las fuentes dietéticas, y el ácido araquidónico, que se puede elaborar de él, son componentes esenciales de los fosfolípidos en las lipoproteínas de las membranas celulares.⁽³³⁾

Las arrugas se clasifican de acuerdo a su profundidad y los requerimientos para su identificación; son una consecuencia lógica de la edad, ya que al ir avanzando, van sucediéndose todos y cada uno de estos cambios; existen las llamadas líneas de expresión, aparecen sobre la frente, en las esquinas de los ojos y como líneas verticales sobre cualquiera de los lados de la boca. Aunque la verdadera naturaleza de las arrugas es desconocida, éstas son el resultado de contracciones de la unión dérmica e hipodérmica y el encogimiento de los músculos superficiales los cuales tienen su punto de inserción en la dermis.⁽¹⁾

Actualmente es de gran importancia el estudio de factores ambientales que inducen al envejecimiento prematuro de la piel; demostraciones clínicas nos indican que los rayos solares son los que principalmente provocan este fenómeno; con esto, la protección de la piel en especial de los rayos UV es un motivo de atención especial para la química cosmética.^(1,11,12,13,33,34)

2.3.1 Procesos oxidativos de la piel.

Los procesos oxidativos a nivel celular se consideran en una gran proporción como causas de envejecimiento natural y prematuro. Una gran parte de los rayos UV se absorben en la epidermis, e inducen a la formación de eritemas solares con consecuencias intra y extracelulares, provocan una inflamación que empieza con la hidrólisis de las membranas de los fosfolípidos seguida de la liberación del ácido araquidónico; la radiación UV genera radicales libres por fotólisis del agua sobre los tejidos y por la liberación del oxígeno que es

un intermediario en las proteínas epidérmicas. Los radicales oxígeno son riesgos ambientales a los cuales estamos expuestos toda la vida.^(1,11,12,34)

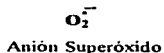
2.3.2 Teoría de los Radicales libres.

Desde su introducción por Harmon en 1950, esta teoría de los radicales libres ha recibido una gran atención; la teoría propone que las especies reactivas del oxígeno tales como el oxígeno en singlete, el anión superóxido y los radicales hidroxilo tienden a iniciar reacciones en cadena. La función del oxígeno es la de ser el receptor de electrones en el enlace de flujo de electrones que generan energía en forma de adenosin trifosfato (ATP), este flujo de electrones ocurre en el interior de la membrana mitocondrial, el retículo endoplásmico y la membrana nuclear.

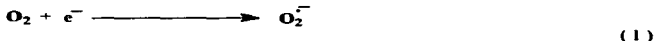
Cuando el flujo de electrones llega a ser inapropiado, se generan radicales libres los cuales modifican el DNA, aceleran la descomposición de proteínas y dañan a los lípidos de una membrana; estas alteraciones cambian la función normal de los componentes celulares.

Un radical libre es un fragmento molecular que contiene un electrón desapareado, se considera un enlace abierto o la mitad del mismo; interpretado químicamente reactivo. Cuando dos radicales reaccionan, ambos son eliminados, formando un compuesto estable o una molécula reactiva nueva. Si un radical libre reacciona con una molécula que no lo es, se produce otro radical libre; esta posibilidad permite a los radicales libres a participar en reacciones en cadena, las cuales pueden ocurrir muchas veces antes de que puedan ser terminadas.

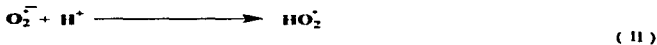
Los radicales derivados de oxígeno son:



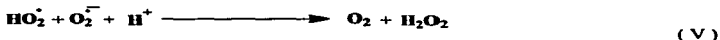
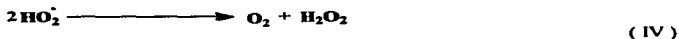
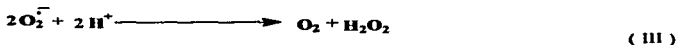
El anión superóxido se produce por la reducción de un electrón de oxígeno molecular (Reacción I).



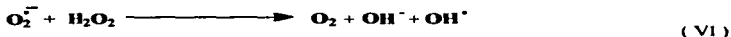
El radical hidroperóxido es producido a su vez por el superóxido (Reacción II), es un intermediario común en la oxidación de compuestos orgánicos hidrogenados.



Ambos están involucrados en la producción de peróxido de hidrógeno, un material altamente reactivo. (Reacciones III, IV y V)



Como último, ellos pueden producir el radical hidroxilo la especie más reactiva que se conoce. (Reacción VI)



La alta reactividad de este radical hace que sea importante acabar con las reacciones que propician su formación, esto es, en las etapas de formación de superóxido y del peróxido de hidrógeno. Los radicales libres constituyen una gran amenaza a las células, ya que sus orígenes están en cualquier lado, pueden ser generados por el medio ambiente, por intermediarios metabólicos y por otros radicales libres. Los efectos de los radicales libres en el organismo incluyen citotoxicidad, alteración de enzimas y ácidos nucleicos, además de peroxidación de lípidos los cuales hacen perder la integridad de la membrana celular. la acumulación de dichos efectos están íntimamente ligados con el proceso del envejecimiento.^(11,11,13)

2.3.3 Antioxidantes.

En la piel, las mismas células han desarrollado mecanismos de defensa para minimizar la generación de radicales hidroxilo; la epidermis contiene en mayor proporción antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que la propia dermis; en la tabla II se muestran los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos presentes en ambas capas.

Antioxidantes enzimáticos	Antioxidantes no-enzimáticos
Superóxido dismutasa	α y σ - tocoferol
Catalasa	Ubiquinal 10 y Ubiquinona 10
Glutati6n peroxidasa	Acido asc6rbico
Glutati6n reductasa	Acido 6rico
Glucosa-6-fosfato	
Deshidrogenasa	
Isocitrato deshidrogenasa	

Tabla II.- Antioxidantes enzimáticos y no-enzimáticos presentes en la dermis y epidermis.

Con la edad las enzimas protectoras de las células disminuyen, por lo tanto el daño por radicales libres a los componentes celulares se acumula.^(1,11)

2.3.4. Compuestos Sulfhidrilo.

El azufre está ampliamente distribuido en la naturaleza y juega un papel importante en procesos de la vida, está presente en todas las células del cuerpo principalmente en las proteínas celulares. Los aminoácidos cisteína y metionina constituyentes de varias proteínas son los que precisamente contienen al azufre; los residuos proteicos de cisteína tienen una función importante en la actividad enzimática; grupos sulfhidrilos específicos como los tioles (RSH), y los disulfuros (RSSR) están involucrados en reacciones de catálisis enzimática. Estos compuestos azufrados pueden estar alterados por interacción directa con radicales libres, se da un entrecruzamiento de enlaces mediante la formación de disulfuros interproteicos o por reacciones irreversibles entre los radicales libres y residuos de aminoácidos. La figura 3 muestra los efectos dañinos que ocurren en la membrana celular, así como el entrecruzamiento proteína-proteína y la oxidación de grupos que contienen azufre.

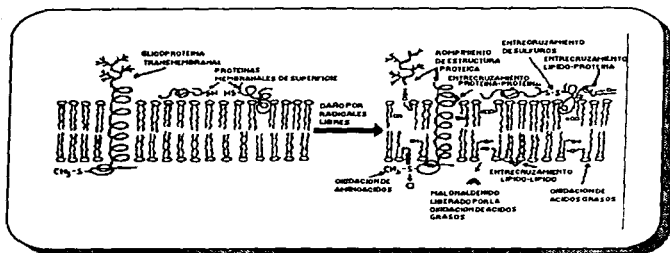


Figura 3. Daño de radicales libres a la membrana celular.⁽¹³⁾

Los tioles y los disulfuro juegan un papel importante en mantener el balance óxido-reductor en la piel. Las enzimas disulfuro reductasa permiten la regeneración del grupo sulfhidrilo dañado por radicales libres; cada enzima es enlazada al estado metabólico de la célula a través del par NAD(P)/NAD(P)H₂. El NAD(P) es la coenzima nicotinamida adenina dinucleótida fosfato así como la forma reducida el NAD(P)H₂ es el producto dihidronicotinamida, la reducción del NAD(P)H₂ ocurre en el anillo de la nicotinamida. Estas coenzimas operan como oxígeno y agentes transportadores de electrones; las enzimas purificadas son inactivadas por agentes combinados de tioles, esto, en presencia de un exceso de agentes reductores, cada uno tiene un enlace disulfuro-proteína el cuál es reducido a grupos sulfhidrilos, esos sulfhidrilos cambian con los disulfuro para regenerar la forma original de la enzima. Los materiales cuyas formas disulfuro selectivas sirven como substratos para las enzimas reductasa son la tioredoxina y el glutatión (GSH), ambos forman los sistemas tioredoxina/tioredoxina reductasa y el glutatión/glutatión reductasa, los dos proveen una mayor línea de defensa para la piel. El sistema tioredoxina realiza funciones de donador de electrones a otras reacciones enzimáticas, actúa como antioxidante y reductor de enlaces disulfuro; esta actividad la comparte con el sistema glutatión que además participa en la reducción de peróxidos, ácido dihidroascórbico y nitratoésteres. Varias enzimas catalizan la reacción de glutatión con grupos disulfuro específicos, mientras que otras lo hacen en la remoción de especies de oxígeno activas.⁽¹³⁾

2.4 Absorción Percutánea.

Una de las principales funciones de la piel es impedir el paso de microorganismos y sustancias ajenas al organismo; es ligeramente permeable al agua pero relativamente impermeable a los iones en solución acuosa.⁽³³⁾

La absorción percutánea se promueve con sustancias liposolubles que tengan la capacidad de llegar a los capilares ubicados debajo de la piel; la integridad de la barrera cutánea depende del grado de hidratación del estrato córneo⁽³⁵⁾, así como la absorción de sustancias depende del vehículo utilizado⁽³³⁾; por lo tanto, el estrato córneo delimita la velocidad de penetración en la absorción percutánea.^(12,24,27,28,36)

A pesar de la estructura de la membrana y del conjunto de leyes que rigen el paso a través de ella, la absorción depende de las características anatomofisiológicas del lugar de administración, y en particular del aporte sanguíneo que le corresponde; la absorción percutánea depende directamente de los mecanismos de paso a través de la membrana.

2.4.1 Mecanismos de Absorción Percutánea.

La absorción percutánea a través de membranas biológicas se efectúa mediante mecanismos activos y pasivos, que implican la participación de los constituyentes de la membrana; dos ejemplos representativos de mecanismos pasivos se dan a continuación:

a) Filtración (Difusión por convección)

La filtración es un mecanismo pasivo que implica el paso a través de los poros acuosos de la membrana, es aplicable a sustancias hidrosolubles de tamaño suficientemente pequeño para pasar a través de dichos poros.⁽³¹⁾

b) Difusión pasiva

La difusión pasiva interviene en el paso de las sustancias susceptibles de disolverse en los constituyentes de la membrana. El paso se realiza según un gradiente (de concentración ó electroquímico), sin ningún gasto de energía, hasta llegar a un estado de equilibrio entre los dos medios; dicho mecanismo está regido por la ley de Fick.

$$\text{Velocidad de paso del principio activo a través de la membrana} = \frac{K \cdot D}{c} \cdot S \cdot (C_1 - C_2)$$

Donde:

K = Coeficiente de partición membrana biológica/medio acuoso de disolución.

D = Coeficiente de difusión de la molécula del principio activo en la membrana.

S = Superficie de la membrana ofrecida a la disolución.

e = Espesor de la membrana.

C₁-C₂ = Diferencia entre concentraciones a cada lado de la membrana.

El análisis de la ecuación nos permite evaluar los factores que influyen sobre la absorción pasiva, por lo tanto, la velocidad de absorción depende de una manera inversamente proporcional al espesor de la membrana, es proporcional a la superficie de la mucosa; la velocidad de absorción depende también de un modo proporcional a K , el coeficiente de reparto de la substancia entre la membrana biológica y el medio en el que se encuentra disuelta en contacto con la mucosa absorbente; otros factores como la liposolubilidad de la substancia y su ionización que esta en función del pH del medio, realizan un papel importante en lo que es la velocidad de absorción. ^(28,31,37)

2.5 Sistemas Terapéuticos de Liberación Controlada.

El desarrollo de nuevas vías de administración, centra principalmente su atención en evitar diversos factores que se dan con las vías de administración comunes, dichos factores tales como la degradación del fármaco en el tracto gastrointestinal y el metabolismo hepático son consecuencias de la administración oral, el inconveniente de fármacos con vida media biológica corta utilizados en la vía parenteral, hace necesaria una aplicación periódica para efectos terapéuticos.

Como solución a estos problemas se han desarrollado nuevos sistemas que puedan controlar la velocidad de liberación de fármacos por diversas vías de administración.

Los sistemas terapéuticos de liberación controlada, surgen de la necesidad de mantener una liberación controlada del fármaco, que inicialmente se realiza en rutas de administración oral; se sabe que estos sistemas requieren una cantidad óptima de principio activo, de tal forma, que al ser administrado el fármaco, se cumpla con la necesidad de curar o controlar una enfermedad en un tiempo mínimo, controlando la cantidad y velocidad de liberación. La liberación controlada no se refiere únicamente a la prolongación de un efecto determinado, sino que también significa que dicho efecto puede producirse y reproducirse en su cinética de liberación.

2.5.1 Sistemas Transdérmicos de Liberación Controlada.

Los sistemas transdérmicos de liberación controlada, consisten en la absorción de moléculas mediante la permeación transdérmica, teniendo su origen en las capas superficiales de la piel; los cuales tienen una serie de pasos a seguir, como son:

1.- Penetración de la molécula al interior, a través de la capa superficial que forma parte del estrato córneo.

2.- Difusión directa, por la epidermis viable.

3.- Llegar a la epidermis papilar.

Los fármacos no ionizables presentan relativa permeabilidad para atravesar la piel vía difusión pasiva, mientras que los ionizables (péptidos, etc) presentan baja o nula permeabilidad impidiendo por lo tanto que estos migren a través del estrato córneo.

En base a lo anterior los sistemas transdérmicos de liberación controlada son sistemas que a través de la absorción percutánea efectúan una liberación controlada del fármaco, a una velocidad establecida y un tiempo predeterminado.⁽³⁸⁾

Se ha observado que ciertas sustancias ionizables al aplicar un campo eléctrico aumentan su permeabilidad, por lo que difunden más fácilmente a través de la piel.^(39,40)

La idea de aplicar corriente eléctrica para aumentar la penetración de moléculas a través del tejido superficial fué descrita por Veratti en 1747. Pero los primeros experimentos bien documentados acerca del transporte de fármacos a través de la piel por medio de una corriente eléctrica fueron hechos por Leduc.^(39,41,42)

El proceso que induce un incremento en la permeación de moléculas de soluto siguiendo el flujo de una corriente eléctrica a través de una membrana se llama iontoforesis. Anteriormente la definición de iontoforesis solo se refería a la permeación de moléculas ionizadas, pero ahora se sabe que moléculas neutras son afectadas al aplicar una corriente.^(39,40,43,44)

2.6 Sistemas Iontofóreticos de Liberación.

Con lo descrito en el apartado anterior se tiene que, la iontoforesis es un proceso por el cual se da el incremento en la permeación de moléculas cargadas o neutras a través de una membrana mediante la aplicación de un gradiente de potencial eléctrico. Dentro de las principales ventajas que se encuentran en un sistema iontoforético, está el uso de sustancias

principales ventajas que se encuentran en un sistema iontoforético, esta el uso de sustancias con vida media biológica corta, el uso de compuestos que normalmente no pueden penetrar por la piel, puedan ser permeados, y que además, el flujo de la sustancia dentro de la circulación puede controlarse al variar la corriente aplicada por lo que se reduce la posibilidad de una posible sobredosificación.^(37,45,46)

Las principales desventajas que se encuentran en este tipo de sistemas es la de una posible respuesta alérgica en la piel, así como las propiedades de barrera que nos confiere la misma, representan un obstáculo importante en la penetración de moléculas.

2.6.1 Componentes de un Sistema Iontoforético de Liberación in vitro.

Un sistema iontoforético de liberación "in vitro" esta formado por los siguientes componentes:

a) Celdas de difusión

El sistema más comúnmente usado es el de dos celdas de vidrio horizontales, una funge como compartimento receptor y la otra como compartimento donador; las celdas están diseñadas para que la membrana sea colocada entre ambas con un área de permeación constante, el área expuesta varia dependiendo del estudio realizado; cada celda tiene dos orificios, uno para toma de muestra ó depósito de la misma y otro como punto de inserción de un electrodo; el volumen de las celdas depende en gran manera del estudio a realizar.^(37,43,46,47,48,49,50,51)

b) Electrodo.

El material recomendado a usar es el platino, ya que a diferencia de los electrodos de Plata/Cloruro de plata (Ag/AgCl) no precipitan proteínas o péptidos; en la mayor parte de los estudios se utilizan dos electrodos, uno en cada celda del sistema, también se ha desarrollado el uso de cuatro electrodos con la ventaja de que el voltaje es medido en la superficie de la piel, proporcionando una medida más precisa, el inconveniente es el difícil manejo experimental.^(37,43,44,45,46,48,52,53,54,55)

c) Sistema eléctrico.

El tipo de corriente a usar generalmente es pulsada, con una frecuencia determinada para obtener una forma de onda cuadrada 1:1 (encendido/apagado).^(37,44,45,46,47,48,53,56,57)

d) Membrana.

Se han utilizado membranas sintéticas como el celofán, pero generalmente se utiliza piel de cobayo, cerdo, ratón y piel de cadáver humano. La piel de ratón es la más empleada, se utiliza la región media abdominal y dependiendo del estudio a realizar, se emplea con o sin estrato córneo. (18,26,38,40,43,47,48,49,52,54,58,59)

El estrato córneo puede ser removido quitando y poniendo veinte veces una tira de cinta adhesiva en el sitio a utilizar, la principal ventaja de usar la región abdominal es que es una de las regiones más delgadas en la piel y con un menor contenido de queratina. (38,47,60)

2.6.2 Principales factores que influyen en la velocidad de permeación durante la iontoforesis.

La velocidad de permeación cutánea con iontoforesis se ve afectada principalmente por tres factores, los cuales son:

1.- Propiedades eléctricas de la piel.

La piel expone una cierta impedancia a las moléculas cargadas que son permeadas por la aplicación de un campo eléctrico, cuando se emplea un campo eléctrico directo, la piel se polariza electroquímicamente impidiendo el paso de las moléculas, reduciendo así la magnitud de la corriente usada. Esta polarización se evita con el uso de corriente pulsada, que alterna con un encendido y apagado periódico en el voltaje aplicado. Cuando está encendido, las moléculas cargadas son dirigidas a la piel, ocurriendo la polarización inmediata de la misma, al momento del apagado ocurre la despolarización, efectuando el paso por ciclos de las moléculas cargadas. (39,45,47,48,61)

2- El pH

El pH es establecido mediante el uso de soluciones reguladoras, se utilizan con el fin de mantener el grado de ionización deseado de las especies presentes en la solución, así como de su consecuente solubilidad; por lo que el pH de la solución puede ser manipulado para transportar la molécula a permear, ya sea hacia el cátodo o hacia el ánodo. (60,62)

3.- La concentración y la fuerza iónica.

Al aumentar la fuerza iónica de la solución, se incrementa el número de especies cargadas que estarán en competición con las especies a permear, por lo que la eficiencia en la permeación iontoforética se vería disminuida; al incrementar la concentración de la especie a difundir y disminuyendo la fuerza iónica, la velocidad de permeación aumentará; aunque esta

aseveración, no es válida para Del terzo y colaboradores⁽⁶⁰⁾, ya que concluyen que la concentración actúa de manera independiente.

2.6.3 Mecanismos de permeación por Iontoforesis.

En diversos estudios se mencionan a los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas como el camino de difusión de las especies iónicas, en un estudio iontoforético a través de piel^(38,45,60,64) se ha concluido también, que la ruta intercelular es la vía de paso más probable, debido a que el potencial eléctrico puede ocasionar un arreglo molecular en los componentes de la piel.^(24,26,35) La figura 4 representa esquemáticamente los sitios de penetración a través de la piel.

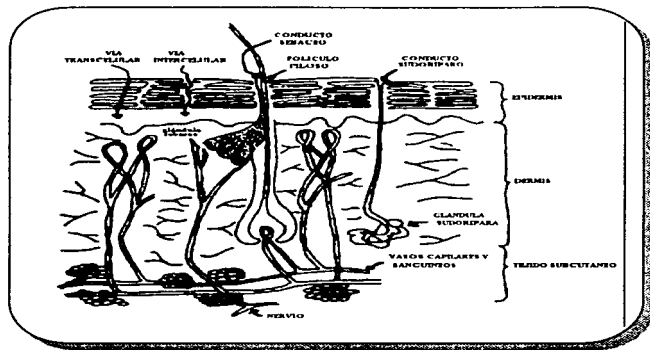


Figura 4.- Sitios de penetración a través de piel⁽⁶⁵⁾

El proceso de entrada "flip-flop" es otro mecanismo empleado para explicar el paso de iones y moléculas de solvente, este mecanismo explica la formación de poros por el voltaje aplicado al estrato córneo, la queratina de dicho estrato, que es un polipéptido alfa

helicoidal, sufre un rearrreglo paralelo en sus hélices, formando así poros de entrada como resultado de la repulsión entre dipolos vecinos, fluyendo de esta manera iones y moléculas para neutralizar el momento dipolar, estas aseveraciones son hechas por diversos autores en trabajos publicados. ^(39,57,60,62,64,66)

2.7 Humectación y Emoliencia.

Se define como emoliente a cualquier sustancia que ayude a reponer la condición original de agua en la piel; el uso de emolientes sobre la superficie de la piel como una barrera, es para prevenir físicamente la pérdida de agua del estrato córneo, esto es considerado un fenómeno de semioclusión.

La humectación puede lograrse también mediante la aplicación de agentes higroscópicos reteniendo agua hacia la superficie de la piel, considerándose ésta su principal función; sustancias tales como la glicerina y el sorbitol son ejemplos claros de estos agentes.

Los componentes normales de la capa emoliente como son los ácidos grasos, triglicéridos, diglicéridos, ésteres de ceras y colesterol; así como el agua son removidos o eliminados por diversos agentes físicos y químicos, tales como, el contacto con sustancias adsorbentes, los jabones, los detergentes, los desengrasantes, la temperatura, la degeneración celular (debida a la edad) y la radiación UV; esto conlleva a tener una piel seca áspera y quebradiza, aquí la importancia de generar productos cosméticos que incluyan en su formulación agentes humectantes y emolientes; la glicerina, el sorbitol, la miel, el aguacate, la papaina, recientemente el uso de extracto de tepezcohuite como filtro emoliente y antiedad; así como el uso de fosfolípidos para la formación de liposomas son algunos de los compuestos utilizados en formulaciones cosméticas y son motivo de investigación dentro de la química cosmética.

2.8 Fosfatidilcolina.

La fosfatidilcolina es uno de los lípidos más importantes que componen la membrana celular, es encontrada de manera natural mezclada con otros fosfátidos, tales como la fosfatidiletanolamina, la fosfatidilserina y el fosfatidilinositol; estos en combinación con triglicéridos, ácidos grasos y carbohidratos; dan lugar a la composición de la lecitina. La lecitina a su vez se puede obtener de orígenes vegetales y animales, ejemplo: de la soya, el maíz, el girasol, el huevo y del cerebro bovino, siendo las de origen animal de muy alto precio, dado el costo que se tiene para su obtención; la fosfatidilcolina también puede obtenerse de manera sintética. El término lecitina en su sentido más específico se refiere a las fosfatidilcolinas. ^(2,5,9,29,30,68)

obtenerse de manera sintética. El término lecitina en su sentido más específico se refiere a las fosfatidilcolinas.^(2,5,9,29,30,64)

En cosméticos, la fosfatidilcolina actúa como humectante y aumenta la inclusión de emolientes a la piel, además que ayuda a regenerar efectos de envejecimiento prematuro por acción de efectos físicos y ambientales, como puede ser la acción de radicales libres ocasionados por los rayos UV en la piel; funciona también como emulsificante en cremas para la piel, lociones, champués, brillantinas, tónicos para el cabello, aceites para masajes, lápices labiales, etc; puede añadirse también a la vaselina, a la parafina, a la cera de abejas, a la manteca benzoinada y otros materiales para mejorar la estabilidad y el efecto emulsivo durante la fabricación de cosméticos.

Los efectos emolientes son evidentes en jabones sólidos y líquidos, disminuye la alcalinidad de los mismos, además de ser un antioxidante suave y mejorar la estabilidad de la espuma.

Actualmente el uso de las fosfatidilcolinas recae principalmente en la formación de liposomas, compuestos útiles en procesos farmacéuticos y cosméticos para la absorción de sustancias que anteriormente no podían ser absorbidos por la piel y ahora pueden serlo por estos compuestos; ya que pueden contener sustancias lipofílicas como hidrofílicas, dado el comportamiento micelar de la fosfatidilcolina en solución acuosa, dando origen a la formación de liposomas, esta formación micelar es una ventaja, ya que se asemeja a la estructura de bicapa de la membrana celular, haciendo fácil la penetración de estos compuestos a través de la misma.^(2,3,4,5,6,7,8,9,10,29,30)

III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 Equipo.

- Balanza analítica; August Sauter GmbH D-7470
- Espectrofotómetro UV; DU®-64 Beckman
- Parrilla con agitación magnética; Thermolyne Sybron SP-10105B
- Sistema electroforético; Fisher Biotech FB 135
- Termómetro digital; YFE, YF-1062
- Equipo de disección (convencional)
- Multímetro; PD5000, Precision SA
- Baño maría; Grant JB I
- Refrigerador; Cryo-Fridge® Baxter
- Microtomo Crióstato; American Optical Corporation
- Microscopio óptico; CH-2 Olympus
- Microscopio de contraste de fases; 2098 Zeiss
- Cromatógrafo de Líquidos, LDC Analytical
- Sistema iontoforético de liberación controlada (Diseñado en el I.P.N)

III.2 Reactivos

- Naproxén sódico; Grado USP.
- Cloruro de potasio; G.R.
- Fosfato monobásico de potasio; G.R.
- Fosfato dibásico de potasio; G.R.
- Phosal 75 SA® American Lecithin Company
- Agarosa; G.R.
- Etanol; Q.P.
- Propilen Glicol; Q.P.
- Tris-Hidroxi Metil Amino Metano; G.R.
- Glicina; G.R.
- Azul de timol; G.R.
- Negro de amido; G.R.
- Metanol; Q.P.
- Acido acético glacial; Q.P.
- Tissue tek®
- Dicromato de potasio; G.R.
- Cloruro de calcio; G.R.
- Miristato de isopropilo (Crodamol)

- Hematoxilina; G.R.
- Iodato de sodio; G.R.
- Ferricianuro de potasio; G.R.
- Tetraborato de sodio; G.R.
- Hexano (grado CLAR)
- Metanol (grado CLAR)
- Fosfatidilcolina Stándar Sigma
- Agua destilada y desionizada

3.3 Material Biológico

Ratones machos de aproximadamente tres meses de edad, amablemente donados por el bioterio del Centro Médico siglo XXI.

3.4 Evaluaciones previas

3.4.1 Evaluación del Aparato Iontoforético de Liberación

Para realizar la evaluación del aparato iontoforético de liberación: se realizó un estudio de permeación para Naproxén sódico, siguiendo las condiciones óptimas fijadas por Briseño y Olivares en su trabajo presentado.⁽⁶⁹⁾

Se estableció una intensidad de corriente de 1.0 mA, temperatura de 37 °C, solución isotónica de cloruro de potasio como solución receptora, pH de 9 utilizando un amortiguador de fosfatos, el corte de piel trabajado sin estrato córneo, con un área de exposición de 0.6013 cm² y una concentración de 30 mg/ml de Naproxén sódico; para el sistema electrónico se uso, una frecuencia de 2 KHz, una forma de onda cuadrada y una razón de encendido y apagado 1:1.⁽⁵¹⁾

El muestreo se realizó cada 5 minutos durante la primera media hora, cada 10 minutos la segunda media hora, después cada hora hasta completar las 6 horas y tomando una última muestra a las 24 horas.⁽⁵¹⁾ las alícuotas fueron de 0.5 ml. cada una sin reposición de volúmenes.

Por separado se realizó otro ensayo de permeación para Naproxén Sódico, se siguieron las mismas condiciones a excepción de las variables eléctricas establecidas, ya que este estudio se realiza de forma comparativa entre ambos experimentos, esto con la finalidad de poder evaluar la funcionalidad del aparato iontoforético de liberación desarrollado. Cada experiencia se realizó por triplicado.

Las muestras de ambos estudios fueron leídas en el espectrofotometro de luz UV, realizando pruebas de estabilidad y una curva de calibración para el Naproxén sódico efectuadas previamente con anterioridad.

3.4.2 Electroforesis de la fosfatidilcolina en el sistema Propilen glicol/Agua/Etanol. (14:8:78)

El propósito principal del estudio electroforético, es evaluar la ionización de la fosfatidilcolina en su forma negativa a un pH de 8.0, tal y como se reporta en las referencias consultadas^(6,7); se utilizó un gel de agarosa al 5%, a un voltaje de 5.78 volts y a una intensidad de corriente de 0.11 mA. Se uso la técnica de tinción de negro de amido para observar la coloración de las bandas en el gel de agarosa.^(70,71)

3.5 Métodos

3.5.1 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos.

Para el sistema utilizado en los estudios pasivos, se emplearon dos celdas de difusión de 100 ml cada una.

Se utilizan ratones machos de aproximadamente tres meses de edad, los cuales se sacrifican por dislocación cervical, se trabaja con la región media abdominal, a la cuál se le quita el pelo utilizando una navaja de rasurar; la piel se obtiene con ayuda del equipo de disección.

La piel obtenida se hidrata en una solución de cloruro de potasio isotónica por espacio de una hora, transcurrido el tiempo, la piel es colocada entre ambas celdas con el estrato cómeo hacia el compartimento donador.^(41,57)

El compartimento donador se llena con una solución de fosfatidilcolina en una mezcla etanol/agua (25:75) a una concentración de 1 mg/ml y un pH aproximado de 8.3; al compartimento receptor se le adiciona solución salina fisiológica (SSF), manteniendo el sistema con agitación constante y a una temperatura de 37 °C, controlada con la ayuda de una cama de arena.

Se monitorea el compartimento receptor, se toman muestras de 0.5 ml, se efectúan a los 30 minutos, a la primera y segunda hora, a las cuatro y doce horas respectivamente y después a intervalos de 12 horas hasta las 48 horas, el muestreo se hará acumulativo.

A la finalización del ensayo se toma una muestra del compartimento donador, efectuando al inicio una misma de la solución donadora.

Las muestras son cuantificadas por medio de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), utilizando el detector UV fijo a una longitud de onda de 210 nm, columna Supelco LC-Si 5 μ , fase móvil acetronitrilo -metanol-agua 65:21:14 a una velocidad de flujo de 2 ml/min.

Posteriormente a la piel utilizada, y a una control sin tratamiento alguno de la misma se les realizan cortes histológicos, los cuales son teñidos siguiendo la técnica de Hemateína ácida de Baker, propia para fosfatidilcolina, la cuál mediante esta técnica se tiñe de oscuro.^(76,72)

Los cortes se ven al microscopio óptico, para observar y evaluar el estado de la piel después del tratamiento al que fué sometida.

3.5.2 Evaluación de la Absorción Percutánea con solventes no polares.

A diferencia de la experiencia anterior, la absorción percutánea de la fosfatidilcolina se promueve con miristato de isopropilo, un solvente con características lipofílicas, útil como acarreador en sistemas cosméticos, esta solución a una concentración de 1 mg/ml es colocada en el compartimento donador, poniendo en el receptor SSF en agitación constante y a una temperatura de 37 °C aproximadamente.

Las tomas de muestras se realizan siguiendo los mismos pasos que en la prueba anterior y las muestras son cuantificadas igualmente en CLAR, siguiendo las mismas variables.

Para el análisis histológico se agregan otros cortes control, tratados por separado con miristato de isopropilo, para tener una mejor idea de la posible interacción que tenga el disolvente con la absorción de la fosfatidilcolina.

3.5.3 Evaluación de la Absorción Percutánea con promotores polihídricos y etanol.

En esta experiencia se utiliza un sistema Propilen glicol/Agua/Etanol (14:8:78) analizado con anterioridad; la concentración empleada es de 1 mg/ml a un pH aproximado de 8.3, la temperatura a 37 °C con una agitación constante.

Las tomas de muestra y la evaluación histológica se realizan de la misma manera que en las experiencias anteriores.

3.5.4 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos, promovida por Iontoforesis.

El compartimento donador es llenado con una solución de fosfatidilcolina en un sistema etanol/agua (25:75), a una concentración de 1mg/ml y un pH de 8.3 aproximadamente, en el compartimento receptor se coloca SSF, manteniendo el sistema con agitación constante y a una temperatura de 37 °C.

El cátodo y el ánodo se colocan en el compartimento donador y receptor respectivamente, los electrodos están conectados a la fuente de poder, con un intensidad de corriente de 0.25 mA, un voltaje de 22.7 volts, una frecuencia de onda de 2 KHz, una forma de onda cuadrada y un radio 1:1.

En este caso se monitorea el compartimento donador, se muestrea a los 30 minutos, a la primera hora y después cada hora hasta completar 7 horas de muestreo, las tomas son de 0.5 ml cada una, al concluir el ensayo se toma una muestra del compartimento receptor.

Las muestras son cuantificadas en CLAR siguiendo los mismos parámetros de las pruebas anteriores.

Para el análisis histológico, se toman muestras de la piel tratada y de un control de la misma, se realizan los cortes, y son teñidos siguiendo la técnica de Hemateína ácida de Baker, analizando posteriormente los cortes histológicos por microscopía óptica.

3.5.5 Evaluación de la Absorción Percutánea en promotores polihidricos y etanol, inducida por Iontoforesis.

Se prepara una solución de fosfatidilcolina en el sistema Propilen glicol/Agua/Etanol (14:8:78), con una concentración de 1 mg/ml a un pH de 8.3 aproximadamente, la cuál, es colocada en el compartimento donador, en el compartimento receptor se adiciona SSF, manteniendo una agitación constante y una temperatura de 37 °C. Los parámetros eléctricos son los mismos que en la experiencia anterior.

El muestreo se realiza en el compartimento donador, tomando muestras de 0.5 ml, se efectúan cada hora hasta las 5 horas de muestreo; se toma una muestra del compartimento receptor una vez concluido el ensayo.

Las muestras se cuantifican por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, manejando las mismas variables que en las pruebas anteriores.

En el análisis histológico, se realizan cortes a la piel tratada y a un control de la misma, tiñendolas con la técnica de Hemateína ácida, para después poder observar y evaluar al microscopio, los posibles daños y cambios que tenga la piel utilizada en el ensayo.

IV. RESULTADOS.

4.1 Evaluaciones previas

4.1.1 Evaluación del aparato iontoforético de liberación.

Para los resultados obtenidos en los estudios comparativos de permeación para Naproxén Sódico, se calcularon las cantidades permeadas en ambos experimentos, resultando que para el ensayo iontoforético, hay una mayor cantidad permeada a los diferentes tiempos de muestreo. En la tabla III se exponen los valores de cantidad permeada por unidad de área en función del tiempo, los valores corresponden para los experimentos con y sin el uso de la iontoforesis.

tiempo (min)	Cant. Perm./Área de exp. (mg/cm ²)	
	Con Iontof.	Sin Iontof.
5	80.21	7.93
10	618.36	10.04
15	1110.53	19.91
20	1495.26	127.32
25	1692.45	223.47
30	1851.29	345.29
40	1990.32	449.11
50	2046.22	596.13
60	2118.38	761.40
120	2178.81	1006.75
180	2221.67	1086.11
240	2287.69	1159.27
300	2354.25	1239.02
360	2391.24	1311.31
24hrs	2420.22	1455.25

Tabla III. Valores de cantidad permeada, para los experimentos con y sin iontoforesis.

En la figura 5 se muestra el gráfico de cantidad permeada por unidad de área en función del tiempo, en él se puede observar el mejoramiento en la permeación de la sustancia utilizada con el uso del aparato iontoforético de liberación empleado.

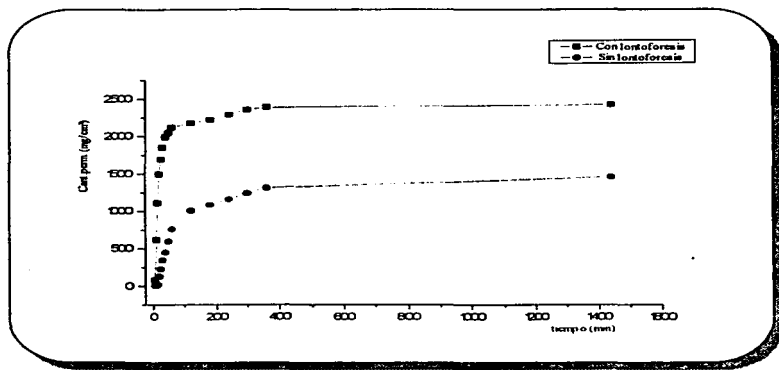


Figura 5. Gráfico de cantidad permeada en función del tiempo para los estudios de Naproxén Sódico, con y sin el uso de la Iontoforesis.

En el gráfico de cantidad permeada en función del tiempo para los estudios de permeación de Naproxén Sódico con y sin el uso de la Iontoforesis; nos indica, que a las condiciones eléctricas establecidas de 1.0 mA, una frecuencia de 2 Khz, una forma de onda cuadrada y una razón de encendido/apagado 1:1, la permeación del Naproxén Sódico se efectúa de manera mejorada en comparación con los resultados obtenidos en el ensayo de permeación sin el uso del aparato iontoforético, el propósito principal de esta comparación es evaluar la funcionalidad del aparato iontoforético de liberación diseñado.

4.1.2 Electroforesis de la fosfatidilcolina en el sistema Propilen glicol/Agua/Etanol (14:8:78).

Los resultados de esta prueba , nos indican que ciertamente a un pH de 8.0 o por arriba de él, la ionización de la fosfatidilcolina, en el sistema Propilen glicol/Agua/Etanol (14:8:78), prevalece en su forma iónica negativa. Estos resultados pudimos constatarlos por medio del bandeado encontrado en el gel de agarosa, el cual se dirigía hacia el ánodo, por lo que la forma iónica de la fosfatidilcolina, prevalecte a las condiciones trabajadas, es su forma negativa.^(67,71)

4.2 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos.

Los resultados obtenidos durante la absorción percutánea de la fosfatidilcolina en sistemas acuosos Etanol/Agua (25:75), de las concentraciones calculadas a diferentes tiempos sobre el compartimento receptor y el compartimento donador, se muestran en la tabla IV.

Compartimento receptor		Compartimento donador
tiempo (hrs)	Conc. (mg/ml)	Conc. (mg/ml)
0	0	1.1623
48	0	1.0593

Tabla IV. Datos de las concentraciones obtenidas a diferentes tiempos, sobre el compartimento receptor y el compartimento donador. Permeación en sistema acuoso Etanol/Agua (25:75).

*De 0 a 48 horas no se encontró cantidad alguna en el compartimento receptor.

Se calcularon los valores de la cantidad inicial y final de fosfatidilcolina en el compartimento donador, y se calculó el porcentaje absorbido en piel una vez concluido el experimento; estos valores se muestran a continuación en la tabla V.

tiempo (hrs)	Cant. (mg)	% absorbido
0	81.361	0
48	74.151	8.86

Tabla V. Valores de la cantidad inicial y final de fosfatidilcolina en el compartimento donador, así como el porcentaje absorbido en piel a las 48 horas.

4.3 Evaluación de la Absorción Percutánea con solventes no polares.

Los resultados de absorción de la fosfatidilcolina en piel; se obtuvieron calculando el % absorbido a partir de las concentraciones inicial y final del compartimento donador, ya que en el compartimento receptor no se encontraron indicios de permeación durante las 48 horas de muestreo. En la tabla VI se exponen los datos de concentración, y de cantidad inicial y final de fosfatidilcolina en el compartimento donador, así como también el porcentaje absorbido en piel después de concluido el ensayo.

tiempo (hrs)	Conc. (mg/ml)	Cant. (mg)	% absorbido
0	1.0042	70.294	0
48	0.6994	48.958	30.35

Tabla VI. Datos de concentración, cantidad inicial y final, así como el porcentaje absorbido en piel.

4.4 Evaluación de la Absorción Percutánea con promotores polihídricos y etanol.

No se encontró respuesta alguna en el muestreo sobre el compartimento receptor, ni hubo variación sobre la cantidad inicial depositada en el compartimento donador con respecto al valor final de la misma.

4.5 Evaluación de la Absorción Percutánea en sistemas acuosos, promovida por iontoforesis.

Durante la permeación con el sistema acuoso Etanol/Agua (25:75) promovida por iontoforesis, no se encontraron indicios de permeación ni de absorción durante el muestreo efectuado a las condiciones eléctricas establecidas.

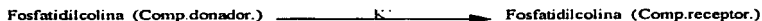
4.6 Evaluación de la Absorción Percutánea en polihídricos y etanol, inducida por iontoforesis.

Para el estudio de la absorción percutánea de la fosfatidilcolina en un sistema de polihídricos y etanol inducida por iontoforesis, se obtuvieron los siguientes datos de concentración, a partir del monitoreo efectuado sobre el compartimento donador a diferentes tiempos, no encontrándose respuesta de permeación de fosfatidilcolina en el compartimento receptor en el transcurso del ensayo. Los datos de las concentraciones en el compartimento donador se muestran en la tabla VII. en ella se puede observar como va disminuyendo la concentración en función del tiempo

tiempo (min)	Conc. (mg/ml)
0	0.9552
60	0.9308
120	0.9053
180	0.7611
240	0.4821
300	0.4687

Tabla VII. Datos de concentración de fosfatidilcolina a diferentes tiempos en el compartimento donador.

El análisis matemático se efectuó partiendo de la siguiente consideración:



Con lo que tenemos qué:

$$-\frac{dC}{dt} = K' C$$

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -K' \int_0^t dt$$

$$\ln C - \ln C_0 = -K' t$$

$$\ln C = \ln C_0 - K' t \longrightarrow \text{Cinética de 1.º orden}$$

$$Y = b + m \cdot x$$

Donde:

- C = Concentración en el compartimento donador como función del tiempo
- C₀ = Concentración inicial en el compartimento donador
- K' = Constante de absorción global
- t = tiempo

De acuerdo a los resultados obtenidos, tomando en consideración el modelo matemático antes descrito, observamos que el comportamiento de los datos se ajustan a un modelo de primer orden; se considera una cinética de primer orden ya que el comportamiento depende de la concentración inicial. Tomando en cuenta que el muestreo se efectuó sin recuperación de volúmenes, se calcularon las cantidades de fosfatidilcolina en el compartimento donador en función del tiempo; por diferencia de la cantidad inicial en el compartimento donador con respecto a la cantidad remanente en el mismo, se obtiene la cantidad absorbida de fosfatidilcolina en piel a los distintos tiempos de muestreo, esto con el objetivo de poder trabajar en función de las cantidades absorbidas en piel y no en función de las concentraciones.

En la tabla VIII se muestran las cantidades absorbidas en piel por área de exposición y así como el porciento absorbido en función del tiempo.

tiempo (min)	Cant. abs. (mg/cm ²)	% absorbido
60	4.3889	3.95
120	8.0675	7.26
180	25.1272	22.60
240	57.0797	51.33
300	58.9737	53.03

Tabla VIII. Datos de cantidad absorbida a diferentes tiempos, así como también el porciento absorbido en piel para cada tiempo.

Para analizar el comportamiento de los resultados obtenidos, en el sistema iontoforético con polihidricos y etanol, se linealizaron los datos, al obtener el logaritmo natural de las cantidades absorbidas en función del tiempo. En la figura 6 se muestra el gráfico de cantidad absorbida contra tiempo, del cual, se obtienen los datos empleados para la linealización, los valores empleados son los comprendidos hasta el segundo punto de inflexión (estado pseudoestable); del mismo gráfico se obtiene el tiempo en el que da inicio dicho estado.

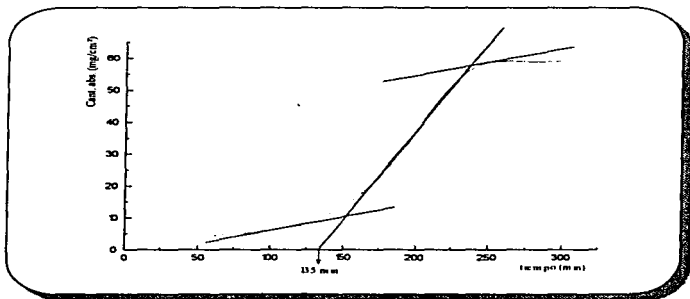


Figura 6. Gráfico de cantidad absorbida contra tiempo para el experimento de absorción percutánea en polihidricos y etanol, inducida por Iontoforesis.

En la figura 7 se observa el gráfico de ln de las cantidades absorbidas en función del tiempo; de la pendiente del gráfico se obtiene la constante de absorción global para este experimento (K abs.global), cuyo valor significa la cantidad de fosfatidilcolina que atraviesa la epidermis por unidad de área en función del tiempo; dicho valor, el del coeficiente de regresión y el de correlación se muestran a continuación:

$$m = K \text{ abs.global} = 0.01468 \text{ min}^{-1}$$

$$r = 0.9942$$

$$r^2 = 0.9884$$

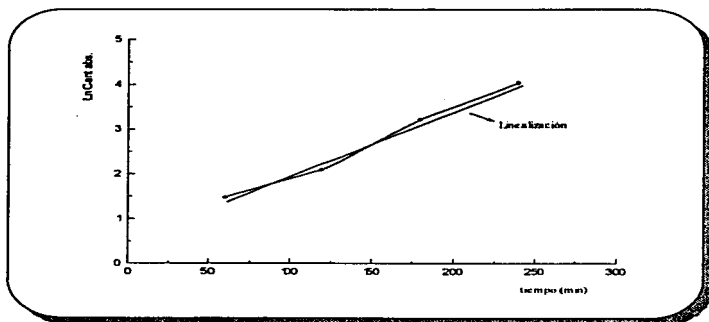


Figura 7. Gráfico de ln de cantidad absorbida contra tiempo, para el ensayo de absorción de la fosfatidilcolina en polihidricos y etanol, inducida por iontoforesis.

4.7 Análisis de los Cortes Histológicos.

Al establecer una comparación de los cortes histológicos tratados, contra un control de la misma piel, se pudo constatar la absorción de la fosfatidilcolina por un mecanismo pasivo, utilizando miristato de isopropilo como promotor⁽¹⁴⁾; y así como también mediante un proceso iontoforético empleando la mezcla de disolventes elegida para solubilizar a la fosfatidilcolina. En la comparación de los cortes histológicos se evaluó también el posible efecto que presentara el influjo eléctrico sobre la estructura de la piel.

El corte de piel tratada con miristato de isopropilo como acarreador para la fosfatidilcolina, se comparó con un control de la piel sin tratamiento, además, se estableció un segundo punto de comparación con un control tratado por separado solamente con el promotor; este tratamiento se añadió con la finalidad de poder evaluar la posible interferencia que presentara el promotor en la tinción de la fosfatidilcolina.

En la figura 8 se pueden observar los tres cortes empleados en la absorción percutánea por un mecanismo pasivo para la fosfatidilcolina, los cortes se muestran a 100 y 400x con el fin de establecer el punto de ampliación en cada corte.

En la figura 9 se muestran los mismos cortes a 1000x, en donde se puede observar la absorción de la fosfatidilcolina al interior de la piel, la comparación se efectúa mediante la coloración de los cortes, debida a la técnica de tinción empleada que es propia para fosfatidilcolina.⁽⁷²⁾

Para el proceso iontoforético se realizó la comparación de la piel usada vía iontoforesis, con un control de la misma piel sin tratamiento; no se estableció un control con el disolvente, ya que en los datos del proceso pasivo con ploidridicos y etanol (el mismo disolvente utilizado en el proceso iontoforético), no se encontró indicio alguno de la absorción. En la figura 10 se pueden observar a 100 y 400x, la comparación entre el control y el corte de piel utilizada en el ensayo.

En la figura 11 se muestra el corte de la piel tratada en el proceso iontoforético a 1000x, localizando los sitios de absorción a nivel de estratos epidérmicos al interior de la piel.

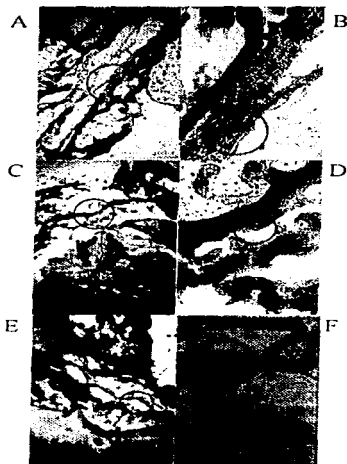


Figura 8. Microscopía de contraste de fases para los cortes de piel utilizados en el mecanismo pasivo. A y B Control sin tratamiento a 100 y 400x, C y D Control tratado solamente con el promotor a 100 y 400x, E y F Piel tratada en la absorción percutánea con fosfatidilcolina en miristato de isopropilo a 100 y 400x.

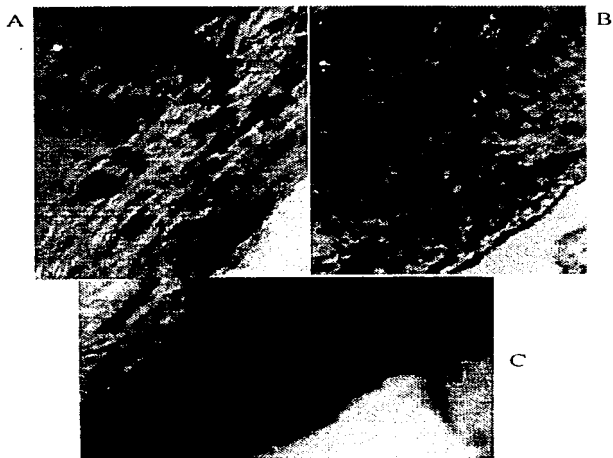


Figura 9. Microscopía de contraste de fases de los cortes empleados en el mecanismo pasivo, vistos a 1000x. Corte A corte de piel sin tratamiento, Corte B control tratado con el promotor y C Corte de piel tratada con fosfatidilcolina en miristato de isopropilo.

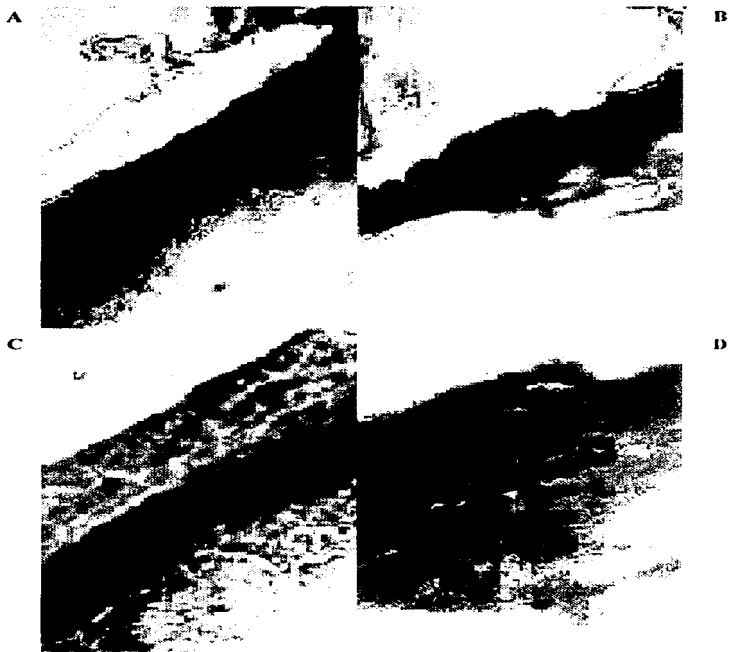


Figura 10. Microscopía de contraste de fases, para el corte de piel tratada por el proceso de Iontoforesis. A Piel sin tratamiento (100x), B Piel con tratamiento (100x), C Piel sin tratamiento (400x) y D Piel con tratamiento (400x).

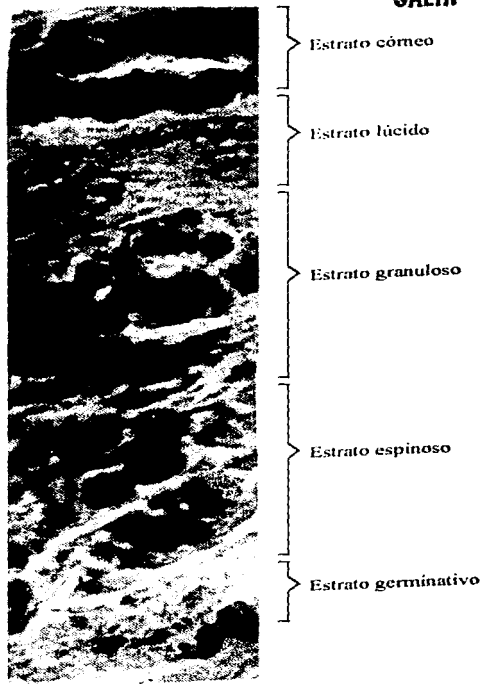


Figura 11. Microscopía de contraste de fases para el corte de piel tratada por el proceso de Iontoforesis (1000x).

V. DISCUSION

5.1 Sistema Iontoforético de Liberación.

El sistema iontoforético empleado es una modificación del usado por Olivares y Briseño, el cuál, es una adaptación del sistema iontoforético desarrollado por Chien y colaboradores.⁽³⁷⁾

Se utilizó un sistema de dos celdas de difusión, una con capacidad para 100 ml. y la otra de 4.5 ml, la modificación en el volumen, del empleado por Olivares y Briseño, responde a un manejo más cómodo en la toma de muestras, ya que desde un inicio se estableció, un muestreo sin recuperación de volúmenes, teniéndolo en cuenta para los cálculos de las concentraciones cuantificadas.

Se estableció el empleo de una tercera celda de difusión con capacidad de 100 ml, la cuál fué utilizada en los procesos pasivos, usando para estos casos dos celdas de igual volumen

5.2 Sistema Electrónico.

El diseño del sistema electrónico se efectuó, siguiendo los mismos parámetros empleados por Olivares y Briseño⁽³⁷⁾, proporcionando una corriente directa pulsada 1:1 con frecuencia de 2 Khz en forma de onda cuadrada, permitiendo variar la intensidad de corriente.

5.3 Sistema de Electrodo

El material empleado en los electrodos fué el platino, desición establecida tomando en cuenta la comparación con los hechos de Ag/AgCl, ya que los electrodos de este material provocan la precipitación de proteínas, dichas comparaciones fueron tomadas de investigaciones anteriores; sin embargo, también se reporta, que los electrodos de platino provocan cambios en el pH, así como, la formación de burbujas por reacciones de electrólisis.^(37,43,46,48)

5.4 Piel.

La piel empleada fué de ratón, se trabajó con la región media abdominal, por ser la parte con menor contenido de queratina.^(26,38,47,48,50)

Para el estudio de los posibles daños que pudiera sufrir la piel ante un proceso iontoforético, se efectuó una comparación con un control sin tratamiento de la misma piel y de la misma región del ratón utilizado, no siendo necesario un corte de tamaño grande para realizar el análisis histológico. La comparación efectuada mediante microscopía de fases, nos permitió observar que la piel tratada en el experimento iontoforético, no sufre alteraciones en su estructura por dicho tratamiento; además de que nos ayuda a comprobar, la absorción de la fosfatidilcolina, quedando en su mayoría en los intersticios celulares dentro de los estratos granuloso y espinoso (Figura 11). Para la difusión pasiva utilizando miristato de isopropilo como promotor⁽¹⁴⁾, se observa la absorción de la fosfatidilcolina quedando en su mayoría entre los estratos córneo, lúcido y granuloso (Figura 9).

5.5 Evaluación de la eficiencia, entre el proceso Iontoforético y un Mecanismo Pasivo.

Se puede observar con los datos encontrados en los procesos pasivos (Tablas V y VI), que de los sistemas empleados, solo en el que se usó al miristato de isopropilo, se obtuvo una mayor eficiencia en la absorción, esto de acuerdo a las características que tiene como promotor y acarreador⁽¹⁴⁾; esa eficiencia no se observó en el sistema acuoso ni en el de polihídricos y etanol, ya que ambos presentaron una escasa y nula absorción respectivamente, esta característica concuerda con el hecho de que la absorción percutánea se favorece con el uso de sustancias liposolubles para lograr dicho proceso.^(15,36)

Los datos de las Tablas V y VI nos sirven de referencia para comparar el porcentaje absorbido de fosfatidilcolina en piel. El 30.35% de absorción utilizando al miristato de isopropilo, demuestra tener mayor eficiencia en la absorción de la sustancia utilizada, esta ventaja en el uso del promotor la ofrece por sus características antes mencionadas.⁽¹⁴⁾ El 8.86% absorbido por el sistema acuoso (Etanol/Agua), muestra tener una eficiencia menor en comparación con el uso del miristato, no se puede concluir que sea una eficiencia baja, ya que la proporción de etanol es la mínima necesaria para que se efectúe el transporte; esta aseveración la proponen Bergstrom, Ghanem y Shah^(15,16,17), los cuáles dicen que a niveles bajos del mismo (< 25%), el etanol tiene poco o ningún efecto sobre la formación de poros de entrada en el estrato córneo.

La figura 9 nos muestra el sitio de absorción alcanzado por la fosfatidilcolina en piel, con esta imagen podemos comprobar a que nivel de la epidermis se está depositando la fosfatidilcolina, quedando en su mayoría en los intersticios celulares en los estratos córneo, lúcido y granuloso; esto se puede analizar al comparar la tinción efectuada sobre los cortes

de piel tratados con el blanco utilizado, esto debido a que la fosfatidilcolina con la técnica de tinción de Hemateína ácida se torna a un color gris o azul oscuro.

Para los sistemas empleados en la iontoforesis, el utilizado con polihídricos y etanol, presentó una absorción de la fosfatidilcolina de manera eficiente, en contraste con el sistema acuoso, que no presentó variación alguna durante el proceso.

5.6 Sistema Iontoforético con polihídricos y etanol.

Al efectuar la evaluación del sistema polihídricos y etanol utilizando a la iontoforesis como promotor de la absorción, pudimos constatar lo siguiente:

Se llevó a cabo un proceso de absorción de fosfatidilcolina a piel; los datos de la tabla VII muestran, que a los diferentes tiempos muestreados sobre el compartimento donador, existe una variación con respecto a la concentración del total inicial, no encontrándose respuesta de permeación en el compartimento receptor durante el tiempo de muestreo, estos resultados al compararse con los obtenidos en el proceso pasivo de polihídricos y etanol, nos indican que la absorción de la fosfatidilcolina promovida con el sistema iontoforético, no es debida en parte a una difusión pasiva de la misma, puesto que los resultados encontrados en el proceso pasivo, nos demuestran que no existió indicio alguno de absorción durante el muestreo, por lo que en principio, el sistema iontoforético a las condiciones establecidas promovió el paso de la fosfatidilcolina al interior de la piel, esta aseveración de acuerdo a lo propuesto por Sarpotdar, Green y colaboradores^(45,46) los cuales promueven a la iontoforesis como una vía de absorción de moléculas cargadas a través de la piel.

En diversos estudios se ha reportado el efecto que tienen como promotores de absorción substancias tales como la glicerina, el sorbitol, el miristato de isopropilo y el propilenglicol⁽¹⁴⁾, esto de acuerdo a que facilitan dicho proceso por sus características liposolubles^(35,36); el uso de sistemas a base de etanol y agua también ayudan a facilitar el proceso de absorción esto de acuerdo a lo reportado por Bergstrom y A. Ghanem^(15,16), ellos proponen que el etanol tiene efecto sobre la formación de poros de entrada en el estrato córneo, ya que éste es la principal barrera de absorción tal y como lo mencionan en sus estudios E.Scott, Rawlings, Chien y diversos autores más^(5,12,24,27,28,38); la intervención del propilenglicol como acarreador, en adición al sistema anterior, coadyuva a propiciar la absorción de la fosfatidilcolina al interior de la piel.

Analizando la figura 6, el tiempo marcado a los 135 minutos nos indica el tiempo en el cual se llevó a cabo la saturación del estrato córneo por el paso del fosfolípido, en el transcurso de este tiempo podemos suponer que el campo eléctrico generado por el proceso iontoforético, ocasionó un rearrreglo molecular en la red de queratina que conforma al estrato córneo, todo esto también ayudado por la acción del etanol formando poros de entrada y del propilenglicol como acarreador; es importante resaltar que la piel tratada, fué sometida a un proceso de hidratación previo al experimento, con lo que se lograron condiciones favorables para la generación del campo eléctrico.

Al transcurrir este tiempo de saturación (135 min) y hasta los 240 minutos en donde se da el segundo punto de inflexión en la curva, podemos observar que en este lapso de tiempo se da la absorción de la fosfatidilcolina al interior de la piel; O'Hagan, Illum y Richardson^(73,74) proponen que el mecanismo de absorción para fosfolípidos al interior de la piel tiene que ver con la solubilización de los componentes de la membrana formando un rearrreglo en su estructura, además de que el fosfolípido como tal, logra penetrar al epitelio al abrir la unión entre célula y célula fuertemente estrechas entre sí, dando lugar a una absorción por vía intercelular a través de los estratos que conforman a la epidermis, para el presente trabajo esto puede observarse en la figura 12, la fosfatidilcolina solo atraviesa el estrato córneo pero no se deposita en él, llegando a depositarse a niveles epidérmicos sobre los estratos lúcido, granuloso, espinoso y basal; el almacenamiento en estos sitios concuerda con lo estudiado por L. Leclercq⁽⁷⁵⁾, el cual menciona que los fosfolípidos conforman la clase de lípidos epidérmicos más abundantes, encontrándose solamente el 5% en el estrato córneo y un 70% aproximadamente en los estratos basal, espinoso y granuloso, esto nos confirma que son los sitios favorables para el almacenamiento lipídico a nivel epidérmico, también debe mencionarse como mecanismo de absorción para fosfolípidos al interior de la piel, lo reportado por Chernomordik y colaboradores⁽⁶⁶⁾ los cuales proponen que el tratamiento eléctrico favorece el enlace de estas moléculas a las células epidermales; posterior a los 240 minutos se observa un periodo de estabilidad en el cual podemos establecer un proceso de saturación con lo cual concluye la absorción del fosfolípido al interior de la piel.

Los datos obtenidos de cantidad absorbida en función del tiempo durante el proceso iontoforético, se linealizaron al calcular el logaritmo natural de la cantidad absorbida (Figura 7) de los puntos comprendidos del inicio del proceso hasta donde empieza a observarse un comportamiento constante, demostrando así, que no existe una relación directamente lineal entre la cantidad absorbida y el tiempo; de la pendiente de este gráfico, se obtuvo una constante de absorción global, dicha constante de absorción con valor de 0.01468 min^{-1} , nos da una idea del paso de la fosfatidilcolina por unidad de área al interior de la piel, incluyendo dentro de la misma constante, variables que pueden afectarla tales como: la intensidad de corriente, la concentración, la fuerza iónica, la temperatura y el peso molecular de la sustancia utilizada, variables que se mantuvieron constantes y que no fueron incluidas dentro del estudio de un modo comparativo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el uso de la iontoforesis con un sistema de polihídricos y etanol, permite la absorción de fosfatidilcolina a niveles epidérmicos, causando efectos emolientes, reestructurantes y de protección-prevención en la piel frente a la acción que puede generar, entre otros, el impacto ambiental como es el efecto causado por los radicales libres, ayudando de esta manera a retardar los efectos del envejecimiento prematuro.

VI. CONCLUSIONES

1.- Se obtuvo un sistema iontoforético in vitro con fines cosméticos, que permitió de manera eficiente la absorción de la fosfatidilcolina, lo cual ofrece la perspectiva de usarse como un nuevo sistema que ayude a retardar los efectos del envejecimiento prematuro.

2.- El análisis comparativo de la absorción de fosfatidilcolina en piel, entre la absorción por procesos pasivos y mediante el uso de la iontoforesis nos indica, que la absorción lograda por medio del proceso eléctrico fué más eficiente y lograda en menos tiempo que por medio de un proceso pasivo. el mecanismo pasivo que más absorción presentó, fué en el que se utilizó al miristato de isopropilo como promotor, seguido del sistema etanol/agua y no presentando indicios de absorción en el que se utilizó el sistema propilen glicol/agua/etanol.

3.- Por el modelo matemático, se pudo evaluar la cinética de absorción de la fosfatidilcolina a piel resultando ser de primer orden, obteniendo una constante de absorción global con valor de 0.01468 min^{-1} ; la cuál, nos indica la velocidad de absorción del fosfolípido por unidad de área al interior de la piel.

4.- La técnica de tinción empleada en los cortes histológicos, resulta ser adecuada para evaluar la absorción de la fosfatidilcolina al interior de la piel, logrando así detectar los sitios donde se deposita en mayor proporción la fosfatidilcolina; así también, el empleo de los cortes histológicos nos ayudo a comprobar que no se efectuó cambio alguno en la estructura de la piel después del tratamiento al que fué sometida.

VII. REFERENCIAS

- 1.- S.Kislalioglu., *Happt.*, 1994, 1, 61-82.
- 2.- H.Talsma, D.J.A.Crommelin., *Pharmaceutical Technology.*, 1992, 16, No. 10 y 11.
- 3.- H.Talsma, D.J.A.Crommelin., *Pharmaceutical Technology.*, 1993, 17, No. 1.
- 4.- J.Hayward., *Cosmetics and Toiletries.*, 1990, 105, 47-54.
- 5.- H.E.Junginger, H.E.J.Hofland, J.A.Bowstra., *Cosmetics and Toiletries.*, 1991, 106,
- 6.- H.Lautenschläger., *Cosmetics and Toiletries.*, 1990, 105, 63-72.
- 7.- K.Suzaki, K.Sakon., *Cosmetic and Toiletries.*, 1990, 105, 65-78.
- 8.- K.Maruyama, et al, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1991, 1070, 246-252.
- 9.- H.Willimann, et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 1992, 81, 871-874.
- 10.- T.Ohtoyo, et al, *Biochemistry.*, 1988, 27, 6458-6463.
- 11.- T.Branna., *Happt.*, 1994, 1, 96-98.
- 12.- A.B.Rawlings, J.Rogers, A.M.Mayo., *Ciencia Cosmética.*, 1995, 1, 27-31.
- 13.- G.Karg, J.Wilmont, A.Znalden., *Cosmetics and Toiletries.*, 1987, 102, 37-45.
- 14.- N.Reyes., *Ciencia Cosmética.*, 1995, 1, 32-38.
- 15.- T.K.Bergstrom, et al, *Pharmaceutical Research.*, 1990, 7, 762-766.
- 16.- A.Ghanem, et al, *Journal of Controlled Release.*, 1987, 6, 75-83.
- 17.- V.P.Shah, et al, *International Journal of Pharmaceutics.*, 1991, 74, 1-8.
- 18.- V.Srinivasan, et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 1990, 79, 588-591
- 19.- S.L.Erlandsen, J.E.Magney., "*Coloratlas Histología*", 1ª Edición, Ed.Mosby, Madrid, España, 1993, 104-105.
- 20.- D.H.Comack, Ph.D., "*Histología de Ham*", 9ª Edición, Ed.Harla S.A. de C.V., México, D.F., 1988, 558-564.
- 21.- S.W.Jacob., "*Anatomía y Fisiología Humana*", 4ª Edición, Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., México, D.F., 1982, 78-86.
- 22.- L.Stryer., "*Bioquímica*", 3ª Edición, De. Reverte S.A., Barcelona, España, 1988, 289-304.
- 23.- T.S.Leeson, "*Histología*". 4ª Edición, Ed.Interamericana S.A. de C.V., México, D.F., 1984, 307-314.
- 24.- Y.W.Chien, "*Novel Drug Delivery Systems*", 2ª Edición, Ed.Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1992, 197-204.
- 25.- A.Tortora, "*Principios de Anatomía y Fisiología*", 3ª Edición, Ed.Harla, México, D.F., 1987,
- 26.- Chien, et al, "*Novel Drug Delivery Systems*", Vol.14, Ed.Marcel Dekker Inc., 74-86.
- 27.- H.Lautenschlager., *Cosmetics and Toiletries.*, 1990, 105, 89-96.
- 28.- A.J.I.Ward, Ch.R., *Cosmetics and Toiletries.*, 1990, 105, 53-59.
- 29.- A.D.Nusimovich, F.J.Casado., *Drugs and Cosmetics Industry.*, 1992, Jan., 40-45.
- 30.- M.Schneider., *Drugs and Cosmetic Industry.*, 1992, Feb., 51-54.
- 31.- J.M.Añache, J.Ph.Devissauet, A.M.Guyot-Herman., "*Biofarmacia*". 2ª Edición, El Manual Moderno, México, D.F., 1983, 22-30, 151-157, 182-189.
- 32.- D.T.Downing., *Cosmetics and Toiletries.*, 1991, 106, 63-69.
- 33.- J.B.Wilkinson, R.J.Moore., "*Cosmetología de Harry*". Ed. Diaz de Santos S.A., Madrid, España, 1990, 49-50.

- 34.- R.D.Petersen. *Ciencia Cosmética.*, 1996, 2, 1-7.
- 35.- C.M.Smith, "Farmacología", Ed.Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1993, 51.
- 36.- J.Hadgraft, R.H.Guy, "Transdermal Drug Delivery", Ed.Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1989, 59-67.
- 37.- W.H.M.Craane-van Hinsber, et al *Pharmaceutical Research.*, 1994, 11, 1296-1300.
- 38.- D.Chu, H.Chiou, D.Wang., *Drug Development and Industrial Pharmacy.*, 1994, 20, 2775-2785.
- 39.- Banga and Chien, *Journal of Controlled Release*, 1988, 7, 1-24.
- 40.- Siddiqui, Roberts and Pollack, *Journal Pharmacy Pharmacology*, 1989, 41, 430-432.
- 41.- Chien and Banga, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1989, 78, 353-354.
- 42.- Banon, et al. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1987, 14, 2617.
- 43.- Belil, et al. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1989, 78, 355-360.
- 44.- Wearly, Chen Liu and Chien, *Journal of Controlled Release*, 1989, 8, 237-250.
- 45.- P.P.Sarpotdar. *Cosmetics and Toiletries.*, 1991, 106, 94-100.
- 46.- P.G.Green, et al, *Journal of Controlled Release*, 1992, 21, 187-190.
- 47.- N.A. and K.Roop, K.J.Hamdard., *Drug Development and Industrial Pharmacy.*, 1994, 20, 3033-3044.
- 48.- G.Rao, P.Glikfeld, R.H.Guy., *Pharmaceutical Research.*, 1993, 10, 1751-1755.
- 49.- Green et al, *Pharmaceutical Research*, 1991, 8, 1121-1127.
- 50.- Kasting, Merrit and Keister, *Journal of Membrane Science*, 1988, 35, 137-159.
- 51.- Lelawongs, Chen Liu, Siddiqui and Chien, *International Journal of Pharmaceutics*, 1989, 56, 13-22.
- 52.- Srinivasan, Higuchi and Su, *Journal of Controlled Release*, 1989, 10, 157-165.
- 53.- Liu, Sun, Siddiqui and Chien, *International Journal of Pharmaceutics*, 1988, 44, 197-204.
- 54.- Gukfeld,Hinz and Guy, *Pharmaceutical Research*, 1989, 6, 988-990.
- 55.- Koizumi, et al, *Chemical Pharmaceutic Bulletin*, 1990, 79, 490-492.
- 56.- S.Thysman, et al. *Journal Pharmacy and Pharmacology.*, 1994, 46, 725-730.
- 57.- Chien, Siddiqui and Lelawongs, *Journal of Pharmaceutical Science*, 1989, 78, 376-383.
- 58.- E.R.Scott, et al, *Pharmaceutical Research.*, 1993, 10, 1699-1709.
- 59.- Green, et al, *Pharmaceutical Research*, 1990, 7, 222-229.
- 60.- Del Terzo, Behl and Nash, *Pharmaceutical Research*, 1989, 6, 85-90.
- 61.- Sanderson, De Riel and Dixon, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1989, 78, 361-364.
- 62.- Srinivasan and Higuchi, *International Journal of Pharmaceutics*, 1990, 60, 133-138.
- 63.- Slough, Spinelli and Kasting, *Journal of Membrane Science*, 1988, 35, 161-165.
- 64.- Burnette and Ongpipattanukul, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1987, 76, 765-772.
- 65.- A.Martin, et al. "Physical Pharmacy". Ed.Lea and Febiger, Philadelphia, USA, 1983, 399-419, 427-431.
- 66.- L.V.Chernomordik, et al, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1991, 1070, 193-197.
- 67.- D.Papahadjopoulos, F.Szoka, *Ann Rev. Biophys. Bioeng.* 1980, 9, 467-508.
- 68.- H.Akutsu, T.Nagamori., *American Chemical Society.*, 1991, 30, 4510-4516.

- 69.- Olivares y Briseño, Tesis de Licenciatura, F.E.S.-Cuautitlán, (U.N.A.M.), 1991.
- 70.- L.C.Junqueira, J.Cameiro., "*Histología Básica*", 1ª Edición, Salvat Editores S.A., Barcelona, España, 1979, 1-5.
- 71.- J.F.Roby, B.J.White, "*Biochemical Techniques Theory and Practice*", 1ª Edición, Waveland Press Inc., USA, 1990, 156.
- 72.- J.A.Kiernan., "*Histological and Histochemical Methods*", 2ª Edición, Ed.Pergamon Press, Ontario, Canadá, 1990, 204-219.
- 73.- L.J.Richardson, F.N.Farraj, L.Illum, "*International Journal of Pharmaceutics.*", 1992, **88**, 319-325.
- 74.- L.J.Richardson, J.L.Illum, N.W.Thomas, "*Pharmaceutical Research*", 1992, **9**, 878-883.
- 75.- L.Leclerq, "*Ciencia Cosmética*", 1996, **2**, 25-32.