

CREMA DEL VIMANG CON ACTIVIDAD ANTI-FOTOENVEJECIMIENTO. I-EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA UTILIZANDO UN MODELO IN VIVO

Ángel R. Concepción Alfonso*, Roberto de la Peña Pino, Raúl Fernández Regalado, René Delgado.

Instituto de Ciencias Básicas y preclínicas "Victoria de Girón", ISCMH, MINSAP, CUBA.

Calle 146 y ave 31, Cubanacán, Playa, La Habana. Telf: 208 48 77. E-mail:

aconce@giron.sld.cu

Resumen

Es conocido que el envejecimiento cutáneo está influenciado por factores endógenos y exógenos. Entre los factores exógenos, la radiación ultravioleta (RUV) es la más dañina de todas, porque provoca fotoenvejecimiento. El daño más significativo ocurre en las fibras colágenas y elásticas, los fibroblastos, las células del sistema inmune cutáneo, la microvasculatura y el estrato epidérmico. La destrucción de los elementos constitutivos de la piel está relacionada con la generación de especies reactivas de oxígeno a este nivel, lo cual ha sido contrarrestado con diferentes tratamientos.

Por estudios in vitro e in vivo es conocido que el VIMANG posee propiedades antioxidantes.

Tomando en cuenta estos antecedentes, se decidió evaluar una crema del VIMANG, mediante métodos histopatológicos en un modelo animal.

Se utilizaron ratones Balb/c/Cenp, machos, de 25 gramos de peso y depilados en el lomo e irradiados con luz UVB, que provoca un envejecimiento agudo.

Los animales fueron separados en los siguientes grupos: grupo I depilado; grupo II depilado e irradiado; grupo III depilado, irradiado y tratado con una crema neutra; grupo IV depilado, irradiado y tratado con una crema del VIMANG.

El tratamiento fue realizado dos veces al día, durante cinco días, sobre el lomo de los ratones. Se utilizó el método de eutanasia por tracción cervical. Las muestras del lomo fueron procesadas mediante técnicas histopatológicas

Fue observado entre otros, regeneración de las fibras colágenas y elásticas en los grupos tratados con la crema del VIMANG.

Los resultados muestran que la crema del VIMANG posee efectos regeneradores de la piel.

Palabras clave: Crema del VIMANG, irradiación UVB, fotoenvejecimiento, evaluación histopatológica.

INTRODUCCIÓN

El Envejecimiento consiste en una pérdida progresiva de la capacidad homeostática del organismo, manifestada en una reducción de sus funciones y un aumento de la vulnerabilidad a las enfermedades [1,2].

Específicamente en el envejecimiento cutáneo intervienen tanto factores endógenos como exógenos [3]. Dentro de estos últimos, las radiaciones ultravioletas (RUV) son las más dañinas, provocando el llamado fotoenvejecimiento [4].

Se ha estudiado en modelos biológicos el efecto del fotoenvejecimiento utilizando luz UV y se ha observado que la destrucción de diferentes elementos constitutivos de la piel, está relacionado con la generación de Especies Reactivas del Oxígeno (ERO) a ese nivel, lo cual ha sido contrarrestado con diferentes tratamientos [5,6]. Los daños más significativos producidos por efecto de la exposición a los rayos UV, ocurren en las fibras colágenas, fibras elásticas, los fibroblastos, las células inmunes cutáneas y el estrato epidérmico [7].

Por otra parte existen inquietudes acerca de la peligrosidad para la salud, de algunos componentes artificiales utilizados en la elaboración de los cosméticos, incluidos los de protección solar, a la vez que se hace mayor la demanda de cosméticos naturales [8].

Partiendo de estos antecedentes y de los estudios *in vitro* e *in vivo* del Vimang (producto natural obtenido del árbol *Mangifera indica*), del cual se sabe posee propiedades antioxidantes [9-12]; se decidió evaluar la capacidad regeneradora de una crema formulada empleando el Vimang como principio activo, con posible actividad anti-fotoenvejecimiento, aplicada en ratones expuestos a los efectos de la luz UVB, evaluando parámetros histopatológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 40 ratones Balb/c/Cenp (ratones Balb/c del Centro de producción de animales de laboratorio de Cuba), machos, de 25 g de peso, mantenidos en una sala a $22 \pm 2^\circ$ C; con ciclo de iluminación artificial 11-13 horas. Los ratones recibieron 4 gramos de pienso para ratones 1000 CMO ALYco Cenp per cápita, diariamente y agua *ad libitum* en botellas de 250mL; se alojaron en cajas colectivas de policarbonato diseñada para la especie, a razón de 10 animales por caja.

Los ratones se mantuvieron 72 horas de reposo antes del comienzo del proceso experimental, posteriormente fueron depilados en el dorso, manteniéndolos 72 horas más, para detectar cualquier daño que pudiera haber provocado la crema depilatoria. A continuación se expusieron a las irradiaciones de una fuente de luz UVB (4 Dosis Eritemal

Mínima), durante media hora de exposición a una distancia de 60 cm. para provocar alteraciones de los diferentes elementos constitutivos de la piel, que semejan un envejecimiento agudo.

Los ratones fueron distribuidos en 4 Grupos:

- I. Depilado no irradiado.
- II. Depilado e irradiado.
- III. Depilado, irradiado y frotado con la crema neutra (sin principio activo).
- IV. Depilado, irradiado y frotado con la crema del VIMANG.

Se aplicó el tratamiento solo a los Grupos III (crema neutra) y IV (crema del VIMANG); estas cremas fueron elaboradas en el Centro de Química Farmacéutica (se mantuvieron en refrigeración a 4°C en frascos plásticos herméticamente cerrados hasta su empleo), la dosificación y esquema de tratamiento fue aproximadamente un gramo de la crema, frotada sobre el dorso de los animales (área de 0,5 cm²), dos veces al día (0,5 g cada vez), durante cinco días. Concluido el experimento a todos los ratones se les practicó la eutanasia por dislocación o tracción cervical, previamente sedados con Tiopental 50 mg/Kg, IP.

Se tomaron muestras de piel del dorso para el procesamiento histopatológico (técnica de la parafina); se hicieron cortes a 6µm y coloración con Hematoxilina-Eosina, Van Gieson y Verhoeff, realizándose las observaciones histopatológicas mediante un microscopio binocular Olympus, de fabricación Japonesa.

Para la evaluación histopatológica se confeccionó una tabla con los resultados cualitativos observados y un gráfico de barras donde se expresa la medida del grosor de la epidermis, empleándose el programa SPSS para ejecutar un ANOVA y aplicar el test de Bonferroni para comparaciones binarias con un nivel de significación $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los animales del Grupo I no se observaron alteraciones histopatológicas (tabla 1, figuras 1 y 2).

En los animales de los Grupos II y III (tabla 1, figura 1 y 2), se encontraron alteraciones tales como acantosis e hiperqueratosis, que conjuntamente con otros factores, impiden el paso del agua transepidermica. Está demostrado que el déficit de agua va ocasionando en la piel una apariencia seca, arrugada y escamosa [13] y que la irradiación UVB provoca proliferación de los queratinocitos e hiperplasia de la epidermis [14,15]. Obsérvese que en el Grupo IV tratado con la crema del VIMANG, estas patologías disminuyen o desaparecen (tabla 1, figuras 1 y 2).

Respecto a las alteraciones vasculares como congestión y hemorragia, fueron severas en el grupo depilado e irradiado (Grupo II). Los rayos UV y las radiaciones causan también la formación de radicales libres, los cuales inactivan o destruyen los fosfolípidos; esta peroxidación lipídica resultante parece estar relacionada con ciertas enfermedades inflamatorias, lo que justifica el efecto de esta crema, por su actividad antiinflamatoria [16]. En los fenómenos de envejecimiento de la piel, intervienen los procesos de degradación de las fibras colágenas [13] y de las fibras elásticas [17]. Estos procesos se aceleran en caso de un severo fotoenvejecimiento, ya que la acción de los rayos UV afecta el funcionamiento de los fibroblastos, células productoras de estas fibras [17]. Por ello la destrucción y desorganización de las fibras colágenas, unido a las alteraciones de las fibras elásticas, observadas en los Grupos II y III constituyen una evidencia clara de que los animales de ambos Grupos sufrieron un severo fotoenvejecimiento. En diferentes estudios morfológicos realizados, se ha demostrado que bajo la influencia de la luz UV se destruye el colágeno y aumenta el número de las fibras elásticas, produciendo la llamada elastosis solar [17,18].

CONCLUSIONES

Los resultados histopatológicos obtenidos, indican que la crema del VIMANG utilizada, posee efectos positivos sobre la piel, con recuperación de las fibras colágenas, elásticas y demás elementos constitutivos de la piel en su conjunto; lo cual sugiere que presenta actividad antifotoenvejecimiento.

REFERENCIAS

- [1] Concepción AR, de la Peña R, Acosta J, González Griego A. (2007) "Algunas características de la piel, fotoenvejecimiento y cremas antifotoenvejecimiento". *Rev Cubana Invest Bioméd*, 26. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002007000200009&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0864-0300.
- [2] Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. (2013). Characteristics of the Aging Skin. *Advances in Wound Care*, 2(1), 5-10.
- [3] Situm M, Buljan M, Cavka V, Bulat V, Krolo I, **Mihić LL**. (2010) Skin changes in the elderly people--how strong is the influence of the UV radiation on skin aging?. *Coll Antropol. Apr; 34 Suppl 2:9-13*.

- [4] Shah H, Rawal MS. (2013). Photoaging: New insights into its stimulators, complications, biochemical changes and therapeutic interventions. *Biomedicine & Aging Pathology*, **3**(3), 161-169.
- [5] Hwang E, Sun ZW, Lee TH, Shin HS, Park SY, Lee DG, Yi TH. (2013). Enzyme-processed Korean Red Ginseng extracts protects against skin damage induced by UVB irradiation in hairless mice. *Journal of ginseng research*, **37**(4), 425.
- [6] Puizina-Ivić N, Mirić L, Carija A, Karlica D, Marasović D. (2010). Modern approach to topical treatment of aging skin. *Coll Antropol.* Sep; **34**(3):1145-1153.
- [7] Bae JY, Choi JS, Kang SW, Lee YJ, Park J, Kang YH. (2010) Dietary compound ellagic acid alleviates skin wrinkle and inflammation induced by UV-B irradiation. *Exp Dermatol.* Aug; **19**(8):e182-190.
- [8] Martins A, Vieira H, Gaspar H, Santos S. (2014). Marketed Marine Natural Products in the Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries: Tips for Success. *Marine drugs*, **12**(2), 1066-1101.
- [9] Ajila CM, Prasada Rao UJS. (2013). Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *Journal of Functional Foods*, **5**(1), 444-450.
- [10] Ramirez JE, Zambrano R, Sepúlveda B, Simirgiotis MJ. (2013). Antioxidant Properties and Hyphenated HPLC-PDA-MS Profiling of Chilean Pica Mango Fruits (*Mangifera indica* L. Cv. piqueño). *Molecules*, **19**(1), 438-458.
- [11] Ferreira FDR, Valentim IB, Ramones ELC, Trevisan MTS, Olea-Azar C, Perez-Cruz F, Goulart MOF. (2013). Antioxidant activity of the mangiferin inclusion complex with β -cyclodextrin. *LWT-Food Science and Technology*, **51**(1), 129-134.
- [12] Rodríguez AM, Ramires Y, Crespo MI, Ocaña CA, López AC. (2012). Eficacia de la crema Vimang® en el tratamiento de la estomatitis aftosa recurrente. *Medisan*, **16**(5), 710-716.
- [13] Farage MA, Miller KW, Berardesca E, Maibach HI. (2009). "Clinical implications of aging skin: cutaneous disorders in the elderly". *Am J Clin Dermatol.* **10**(2):73-86. doi: 10.2165/00128071-200910020-00001
- [14] Johnson JL, Koetsier JL, Sirico A, Agidi AT, Antonini D, Missero C, Green KJ. (2014). The Desmosomal Protein Desmoglein 1 Aids Recovery of Epidermal Differentiation after Acute UV Light Exposure. *Journal of Investigative Dermatology*.
- [15] Jorge AES, Hamblin MR, Parizotto NA, Kurachi C, Bagnato VS. (2014, March). Photodynamic therapy improves the ultraviolet-irradiated hairless mice skin. In *SPIE BiOS* (pp. 89260N-89260N). International Society for Optics and Photonics.
- [16] Shah KA, Patel MB, Patel RJ, Parmar PK. (2010). *Mangifera indica* (mango). *Pharmacog. Rev*, **4**, 42-48.

[17] Dupont E, Gomez J, Bilodeau D. (2013). Beyond UV radiation: A skin under challenge. *International journal of cosmetic science*, 35(3), 224-232.

[18] Takeuchi H, Runger TM. (2013). Longwave UV Light Induces the Aging-Associated Progerin. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(7), 1857-1862.

ANEXOS

Tabla 1: Relaci3n de los daños histopatol3gicos del experimento con ratones Balb/Cenp.

GE	AC	HI	HE	II	CO	DFC	DFE
I	-	-	-	-	-	-	-
II	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
III	+++	++	+++	+++	++	+++	+++
IV	+	+	+	+	+	+	+

Criterio: (-) NORMAL; (+) LEVES; (++) MODERADOS; (+++) SEVEROS.

GE: Grupos Experimentales.

I. Grupo depilado.

II. Grupo depilado irradiado sin crema.

III. Grupo depilado irradiado tratado con crema neutral.

IV. Grupo depilado irradiado tratado con crema Vimang.

Patologías específicas:

AC- Acanosis; HI- Hiperqueratosis; HE- Hemorragia; II-Infiltrado Inflamatorio; CO- Congesti3n; DFC- Daños a las fibras colágenas; DFE- Daños a las fibras elásticas.

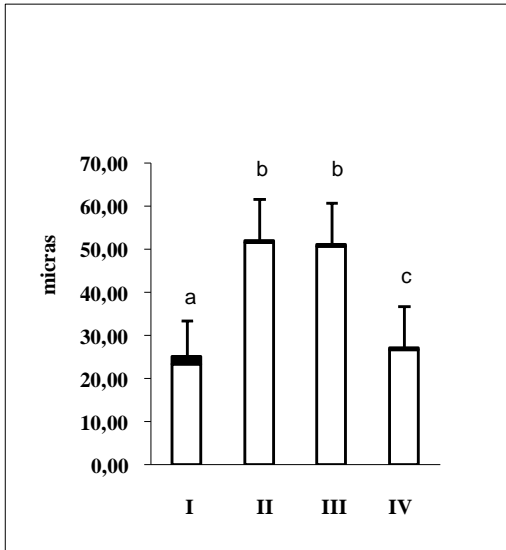


Figura 1. Grosor de la epidermis en los diferentes grupos.

- I. Grupo depilado.
- II. Grupo depilado irradiado sin crema.
- III. Grupo depilado irradiado tratado con crema neutral.
- IV. Grupo depilado irradiado tratado con crema Vimang.

Valores de la Media ± SD; letras superiores diferentes indican diferencias significativas para $p < 0.05$ (Test de Bonferroni).

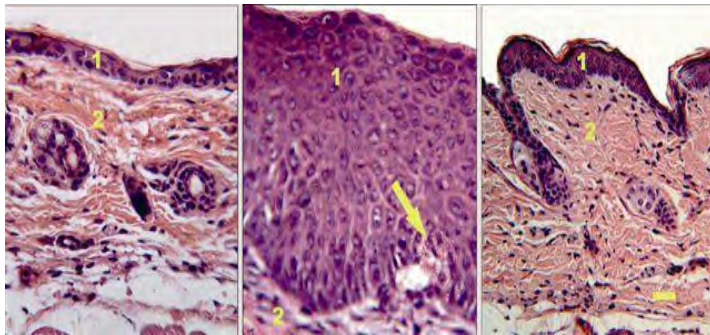


Fig. 2. Cortes de piel. Coloración H-E.

De izquierda a derecha: control, irradiada (al centro) e irradiada y tratada con la crema del vimang. 1-Epidermis 2- Dermis. Observe la acantosis de la epidermis en la irradiada y la recuperación en el caso de la tratada con vimang. La flecha indica un área de hemorragia.

Bar = 20 μ m