

TRABAJOS ORIGINALES

Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana
Centro de Investigaciones Biomédicas
Centro de Bioactivos Marinos

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE ALGAS MARINAS, CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y REORGANIZADORA DE LA FIBRA COLÁGENA

Lic. Ángel R. Concepción Alfonso, Lic. Miguel D. Fernández Pérez, Lic. Anays Fernández Reyes, Lic. Anays Mata Mayo y Téc. Teresita del Vallín Cruz

RESUMEN

Se utilizaron 5 extractos de algas marinas de las costas cubanas, para evaluar la actividad antifotoenvejecimiento de estas, mediante técnicas bioquímicas e histopatológicas. Se evaluó *in vitro* la actividad superóxido dismutasa de los extractos y uno de ellos demostró poseer buena actividad enzimática, por lo que se pudiera inferir que actúa como protector de las células, frente a la aparición de radicales libres o sustancias capaces de formarlos, como el radical superóxido. La actividad del mejor de los extractos fue: SOD IC₅₀ = 1,71 mg/mL. Se realizó un estudio histopatológico de piel de ratones irradiados con luz UVC, con el objetivo de desorganizar las fibras colágenas, elásticas y otros constituyentes de la piel, responsables del envejecimiento de este órgano. Se encontró en animales irradiados y tratados con las cremas preparadas a partir de estas algas, reorganización de la fibra colágena, así como disminución de la "elastosis solar" y de la acantosis epidérmica. Se observó además efecto antiinflamatorio. Se concluyó que los extractos estudiados presentaban actividad antifotoenvejecimiento y se propuso el mejor de ellos, para su uso en la preparación de cremas útiles contra las arrugas de la piel.

Descriptores DeCS: EXTRACTOS VEGETALES/ uso terapéutico; ALGAS MARINAS; ANTIOXIDANTES/ uso terapéutico; ENVEJECIMIENTO DE LA PIEL; RAYOS ULTRAVIOLETA/efectos adversos; RATONES; TEJIDO CONJUNTIVO; TEJIDO ELÁSTICO.

La piel constituye el tegumento externo del organismo, cumple diferentes funciones como: protectora, intercambio acuoso y térmico con el medio externo, síntesis de vitamina D, entre otras; por lo que su

protección es de vital importancia para el mantenimiento del organismo como un todo. Como otros órganos la piel sufre un proceso de envejecimiento, intrínseco y extrínseco, de este último las radiaciones

ultravioletas (UV) son las más dañinas.¹ Producto de la acción de los rayos UV, los daños más significativos ocurren en las fibras colágenas y elásticas, los fibroblastos, las células inmunes cutáneas, la microvasculatura y en diferentes tipos celulares del estrato epidérmico.²

De ahí que muchos investigadores se hayan interesado en la búsqueda de modelos biológicos que permitan estudiar ambas formas de envejecimiento y conocer la acción tóxica de productos que contrarresten o detengan estas alteraciones.³ En este sentido se ha evaluado el efecto de diversos compuestos, muchos de origen marino, pues la protección de estos organismos a la luz UV incluye sustancias que absorben estas radiaciones.⁴

Dada la importancia en la búsqueda de productos antifotoenvejecimiento y teniendo en cuenta que Cuba es un archipiélago rodeado por el mar, donde habitan gran variedad de organismos, se realizó el presente trabajo. Se empleó un modelo de fotoenvejecimiento agudo, *in vivo*, para evaluar histopatológicamente las propiedades de extractos de algas marinas de las costas cubanas, asimismo se realizaron evaluaciones bioquímicas *in vitro*, para conocer la actividad superóxido dismutasa (SOD).

MÉTODOS

Para el estudio histopatológico, se utilizaron ratones machos Balb/C, peso 26 g, que fueron depilados en el lomo, se dejaron reposar 3 d y se sometieron a una dosis de radiación UVC, por un intervalo de 30 min, a una distancia de 30 cm. Se realizó el tratamiento con las cremas, durante 5 d, 2 veces al día, sobre la región depilada e irradiada del lomo. Las cremas se prepararon a partir de 5 algas marinas, de las que se presenta aquí el resultado obtenido con la más promisoría. El extracto

se obtuvo mediante solución hidroalcohólica y fue liofilizado y almacenado en congelación a -80 °C hasta el momento de ser utilizado, en que se pesaron 250, 500 y 1 000 mg, se disolvió en 4 mL de solución salina y se le añadieron 6 g de ungüento hidrófilo, para darle la consistencia de una crema.

Al quinto día los animales se sacrificaron por tracción cervical. Las pieles se colocaron en formol 10 % y procesaron mediante la técnica de parafina, se realizaron cortes a 5 μ y colorearon con H-E, Van-Gieson y Verhoeff.

Estudio morfométrico: Se realizó un total de 10 mediciones del grosor de la epidermis por grupo, las medias fueron representadas en un gráfico y además se aplicó el *test* estadístico de Duncan para comparación de medias.

Diseño experimental:

Grupo I/ Solo se depila.

Grupo II/ Se depilan y se irradian.

Grupo III/ Depilado e irradiado, para posteriormente ser evaluado con el ungüento hidrófilo.

Grupo IV/ Depilado e irradiado, evaluado con una crema antifotoenvejecimiento reconocida.

Grupo VA/ Tratado con una dosis de nuestra crema de 25 mg/mL.

Grupo VIA/ Tratado con una dosis de nuestra crema de 50 mg/mL.

Grupo VIIA/ Tratado con una dosis de nuestra crema de 100 mg/mL

Se realizaron evaluaciones bioquímicas, para determinar la actividad SOD.⁵

RESULTADOS

Los resultados bioquímicos están en la figura 1. Los resultados histopatológicos se muestran en las tablas 1 y 2 y en las figuras 2, 3 y 4.

TABLA 1. Resultados histopatológicos para los diferentes grupos

Grupos	Hiperque- ratosiis	Acan- tosis	Hemorra- gia	Infiltrado inflamatorio	Congestión de los vasos	Daños en la fibra colágena	Daños en la fibra elástica
I	—	—	—	—	—	—	—
II	***	***	***	***	***	***	***
III	***	***	**	***	***	***	**
IV	—	—	—	—	*	—	—
VA	—	*	**	**	*	—	—
VIA	—	*	—	*	—	—	—
VIIA	—	*	—	*	—	—	—

Leyenda: De acuerdo con los daños a los tejidos: normal: —, leves: *, moderados: **, severos: ***

TABLA 2. Medias del grosor de la epidermis para cada grupo

Grupos	I	II	III	IV	VA	VIA	VIIA
Valor medio	46,91	106,78	104,79	47,20	58,34	54,41	57,18

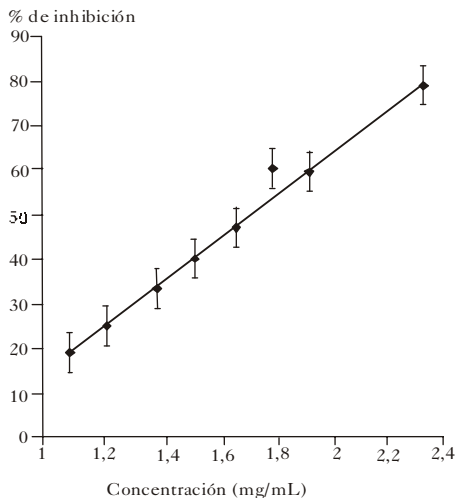


Fig. 1. Relación dosis-respuesta correspondiente al extracto de algas ($CI_{50} = 1,71 \text{ mg/mL}$).

Resultados del test de Duncan (tabla 2 y fig. 2): como se puede apreciar existen diferencias significativas entre los grupos señalados con diferentes letras. Se debe destacar que estos valores son solo referidos para la acantosis.

II 106,78 a V 58,34 b IV 47,20 c
 III 104,79 a VII 57,18 b I 46,90 c
 VI 54,41 b

Los resultados de la evaluación de la actividad mimética de SOD de los extractos marinos se muestran en la figura 1, en la que se representaron los porcentajes de inhibición contra las concentraciones utilizadas. En cada caso se calculó gráficamente la concentración inhibitoria media (CI_{50}).

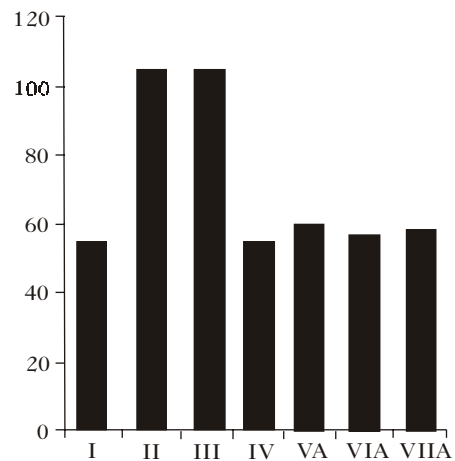


Fig. 2. Relación de las medias del grosor epidérmico (en micras) en dependencia del grupo. Efecto de varias cremas de algas sobre la acantosis de la piel de ratones fotoenvejecidos.

Fig. 3. Animal control donde se muestran todas las características de la piel normal.

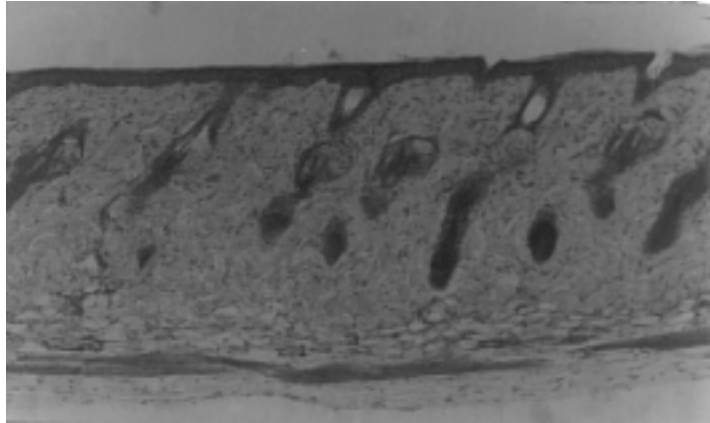
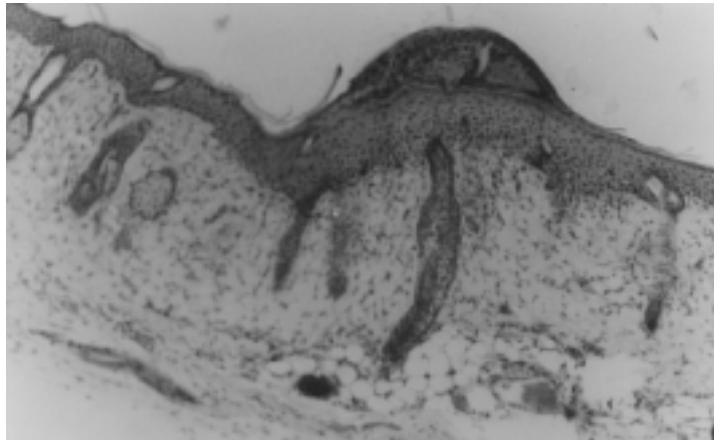


Fig. 4. Animal experimental del grupo II, donde se observan severos daños tanto en el nivel de la dermis como de la epidermis.



DISCUSIÓN

Las alteraciones histopatológicas descritas en el presente trabajo, utilizando este modelo de irradiación con luz UVC en ratones depilados, coinciden con las descritas por otros autores, utilizando luz UVA y UVB,⁶⁻⁸ lo que permitió realizar las evaluaciones de la piel, de todos los grupos de animales.

Se encontraron alteraciones como acantosis e hiperqueratosis, que entre otros factores, impiden el paso del agua transepidérmica. Se sabe que el déficit de agua va dando a la piel una apariencia seca, arrugada y escamosa.⁹ Observe que los grupos

tratados con las cremas antifotoenvejecimiento, disminuyeron o eliminaron esta patología.

Respecto a las alteraciones vasculares como congestión y hemorragia, fueron severas en algunos casos, como el control depilado e irradiado. Se sabe que las radiaciones UV destruyen totalmente la microvasculatura.¹⁰ Esto está ligado a un proceso inflamatorio agudo que involucra la presencia de polimorfonucleares y una mayor cantidad de macrófagos; además los rayos UV y las radiaciones oxidativas causan la formación de radicales libres, lo que inactiva o destruye fosfolípidos; esta peroxidación lipídica resultante, parece

estar relacionada con ciertas enfermedades inflamatorias.¹¹ Estas alteraciones disminuyen en los animales tratados con nuestras cremas.

En los fenómenos de envejecimiento de la piel, intervienen los procesos de degradación de las fibras colágenas⁹ y de las fibras elásticas.¹² Estos procesos se aceleran en caso de un severo fotoenvejecimiento, pues la acción de los rayos UV afecta el funcionamiento de los fibroblastos, células productoras de estas fibras.¹³ Por ello la destrucción y desorganización de las fibras colágenas, unido a las alteraciones de las fibras elásticas, que se aprecia en los grupos II y III son una evidencia clara de que los animales de estos 2 grupos sufrieron un severo fotoenvejecimiento. En estudios

morfológicos realizados por diferentes autores, se ha demostrado que bajo la influencia de la luz UV se destruye el colágeno y aumenta el número de las fibras elásticas.¹⁴

Como se aprecia en los resultados, las alteraciones histopatológicas observadas en los animales depilados e irradiados, son atenuadas o eliminadas mediante el uso de la crema preparada a partir del extracto del alga. El mismo extracto presentó buena actividad antioxidante, dada por los resultados bioquímicos, lo que avala aún más sus propiedades antifotoenvejecimiento. Otros autores utilizando compuestos marinos encontraron actividad antioxidante y antienvjecimiento,^{11,15,16} esto confirma los resultados obtenidos con los extractos de algas marinas, en este estudio.

SUMMARY

Five seaweed extracts from the Cuban shoreline were used to assess their antiphotaging capacity through biochemical and histopathological techniques. The superoxide dismutase activity of extracts was evaluated *in vitro* and one of them proved to have good enzymatic function, so it may be inferred that it acts as a cell protector against the occurrence of free-radicals or free-radical forming substances like superoxide radical. The activity of the best of the extracts was SOD IC50=1,71 mg/mL. A histopathological study of the skin of mice irradiated with UV light was carried out to disrupt collagen and elastic fibers as well as other skin components responsible for skin aging. The finding was that in animals irradiated and treated with seaweed creams, collagen fibers reorganized, and "solar elastosis" and epidermic acanthosis decreased. Also antimflammatory effects were observed. It was concluded that the studied extracts had antiphotaging capacity, therefore it was suggested that the best of such extracts be used in the preparation of creams to treat wrinkles.

Subject headings: PLANT EXTRACTS/therapeutic use, SEAWEED; ANTIOXIDANTS/therapeutic use; SKIN AGING; ULTRAVIOLET RAYS/adverse effects; MICE; ELASTIC TISSUE; CONNECTIVE TISSUE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ledo A. Clinical aspects of intrinsic aging and associated dermatosis. The proceeding of the 18th World Congress of Dermatology. 1992; 823 pp.
2. Bernstein EF, Chen YQ, Koop JB, Fisher L, Brown DB, Hahn PJ, *et al.* Long-term sun exposure alters the collagen of the papillary dermis. *Dermatology* 1996; 7: 209-15.
3. Gilchrist BA. A review of skin aging and its medical therapy. *J Dermatol* 1996; 135(6), 867-75.
4. Dunlap WC, Chalker BE, Bandaranayake WM, Won J. Nature sunscreen from the Great Barrier Reef, Australia. *Int J Cosmetic Sci* 1998; 20(1): 41-51.
5. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase and enzyme function for erythrocyte. *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-55.
6. Beissert S, Granstein RD. UV induced cutaneous photodamage. *Biochem Mol Biol* 1996;8:381-404.
7. Davis S, Lopjoch L, Kerr N, Fedesejirs R. Clothing as protection from UV radiation: which fabric is most effective?. *Int J Dermatol* 1997;36(5): 374.
8. Haratake A, Uchida Y, Mimura K, Elias PM, Holleran WM. Intrinsically aged epidermis displays diminished UVB-induced alteration in barrier function associated with decreased proliferation. *J Invest Dermatol* 1997; 108(3): 319-23.

9. Goldemberg RL. Functional aging. *Drug Cosmetic Ind* 1995b; 7: 68-71.
10. Rieger MM. Protective effect of sunscreens against skin pathologies. *J Dermatol* 1987; 104(7): 91-6.
11. Goldemberg RL. Coumpounders from the sea. *Drug Cosmetic Ind* 1995a;7: 56-61.
12. Bernstein EF, Vitto J. Effect of photodamage on extracelular matrix. *Clin Dermatol* 1996;8(6): 144-9.
13. Bernstein EF, Chen QY, Tamai K. Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. *J Invest Dermatol* 1994;103: 182-6.
14. Lakkakorpi J, Vitto J. Long term sun exposure alters the collagen of papillary dermis. *J Am Acad Dermatol* 1996;39: 209-18.
15. Mayer AMS, Choudhry MA, Sayeed MM, Spitzer JA. Marine toxin okadaic acid reduces O₂ generation and tyrosine phosphorylation in LPS-primed rat neutrophils. *Life Sci* 1997; 61(15):199.
16. Yutaka H. Promoter for biological hyaluronic acid synthesis, composition externally applied to the skin and use thereof. European Patent Application, publication number 0531978A2, 1995.

Recibido: 10 de febrero del 2000. Aprobado: 18 de mayo del 2000.

Lic. *Ángel R. Concepción Alfonso*. *Centro de Investigaciones Biomédicas*. Avenida 146 y 31, Playa, CP11600, Ciudad de La Habana, Cuba.