

Valutazione dell'efficacia d'uso della **Hydroelettroforesi** in cosmetica e nella terapia topica

F.P. BONINA¹

L'efficacia di un prodotto applicato sulla pelle, sia per finalità terapeutiche che cosmetiche, è notevolmente influenzata dal grado di penetrazione cutanea dei suoi componenti attraverso lo strato corneo che costituisce la principale barriera che si oppone all'assorbimento percutaneo di ingredienti attivi cosmetici e di principi attivi farmaceutici.

Allo scopo di incrementare il flusso attraverso la pelle di prodotti farmaceutici e cosmetici, e conseguentemente la loro efficacia, negli ultimi decenni sono stati utilizzati diverse strategie come l'utilizzo di penetration enhancers, sostanze in grado di aumentare in modo reversibile e temporaneo la permeabilità cutanea, di profarmaci dermici nonché l'applicazione di tecniche di ionoforesi e di jontoforesi.

Nonostante l'abbondante letteratura prodotta dall'utilizzo di queste strategie, i risultati ottenuti nella maggior parte dei casi risultano relativamente modesti nell'incrementare la permeazione cutanea di principi attivi farmaceutici e/o di ingredienti attivi cosmetici. Inoltre le varie tecniche hanno spesso evidenziato notevoli limitazioni nella loro applicazione pratica.

Recentemente, allo scopo di migliorare il profilo di permeazione cutanea di prodotti applicati topicamente, è stata introdotta con successo una nuova tecnica, chiamata **hydroelettroforesi**, in grado di migliorare la permeazione cutanea di attivi farmaceutici e cosmetici. La **hydroelettroforesi** è caratterizzata da una iterativa corrente elettrica in grado di produrre una sequenza di stimoli, separati da intervalli di un secondo, a frequenza modulata.

Questa tecnica consente una maggiore permeazione cutanea degli attivi attraverso lo strato corneo e quindi una maggiore concentrazione tissutale di farmaci e cosmetici negli strati più profondi della pelle, migliorando l'efficacia del trattamento cosmetico e/o terapeutico.

L'apparecchiatura utilizzata a tale scopo (**Hydrofor**) comprende un modulatore di corrente elettrica, che invia gli impulsi a due terminali, uno dei quali è costituito da un contenitore per il prodotto (gel, soluzione, crema) da utilizzare come elettrodo dispenser, e l'altro da una piastra di gomma di ampia superficie che, posizionata sulla superficie cutanea, chiude il circuito.

Lo scopo di questo lavoro sperimentale era quello di valutare l'efficacia d'uso di questa tecnica nell'applicazione di questa appa-

recchiatura in cosmetica che nella terapia topica.

Per effettuare tale sperimentazione è stato scelto il modello dell'eritema cutaneo indotto da esposizione a radiazioni UVB, in quanto questo modello consente la valutazione sia dell'efficacia terapeutica di sostanze antinfiammatorie utilizzate per via topica che della funzionalità di ingredienti attivi cosmetici dotati di capacità antiossidante-antiradicalica e come tali utilizzati in prodotti cosmetici antiaging (1).

Gli studi riportati in letteratura infatti dimostrano infatti che i radicali liberi svolgono un ruolo determinante sia nel processo eritematogeno, conseguente ad una esposizione acuta della pelle alle radiazioni UV, che in altri processi degenerativi (photoaging, carcinogenesi etc.) causati da lunghe e protratte esposizioni cutanee a queste radiazioni (2-3).

Diversi autori (1-4) sostengono che la determinazione dell'effetto protettivo nei confronti dell'eritema cutaneo indotto da radiazioni UV rappresenta un valido modello per la valutazione dell'efficacia di antinfiammatori non steroidei utilizzati nella terapia topica di diverse patologie che di sostanze attive cosmetiche impiegate nella protezione dei componenti della pelle dagli effetti degenerativi provocati dai radicali liberi.

In questa sperimentazione, utilizzando un protocollo già riportato in letteratura (5-14), è stata determinata quindi la capacità di due formulazioni in gel, una contenente diclofenac al 2% (scelta come modello di farmaco) ed una contenente tocoferolo acetato al 2% (scelta come modello di ingrediente attivo cosmetico ad attività antiossidante-antiradicalica), di inibire l'eritema cutaneo indotto, in volontari sani, da esposizione a radiazioni UVB. La valutazione è stata condotta inducendo, mediante una adeguata esposizione a lampada UVB, un eritema cutaneo su alcuni siti cutanei dell'avambraccio di 24 volontari sani e trattando alcuni di questi con le formulazioni in gel di diclofenac o di tocoferolo acetato mentre in altri siti l'applicazione della formulazione veniva effettuata

Università di Catania

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche

¹Prof. Ordinario di Tecnologia, Socioeconomia e Legislazione farmaceutiche e di Chimica dei Prodotti Cosmetici - Facoltà di Farmacia - Univ. di Catania

con l'utilizzo della macchina Hydrofor.

Per una più obiettiva e quantitativa valutazione, il decorso eritematogeno è stato monitorato mediante una tecnica non invasiva come la spettrofotometria di riflettanza.

Protocollo sperimentale

Per eseguire il protocollo sperimentale sono stati impiegati ventiquattro volontari sani, previamente informati della natura dell'esperimento e delle procedure utilizzate. I volontari, a cui è stato chiesto il consenso scritto, sono stati scelti tra soggetti aventi fototipo II e III.

L'eritema cutaneo è stato indotto mediante una lampada ultravioletta Mod. UVM-57 (UVP, San Gabriel, CA) in grado di emettere radiazioni nell'intervallo 290-320 nm con picco a 302 nm. Per ciascun soggetto è stata preliminarmente determinata la minima dose eritematogena (MED) e quindi sono stati individuati e demarcati quattro siti di 1 cm² sulla parte centrale di un avambraccio e sei siti cutanei di 1 cm² sulla parte centrale dell'altro avambraccio. Questi siti cutanei sono stati quindi irradiati, per provocare l'eritema, con tempi di esposizione pari al doppio della MED corrispondente al soggetto.

Dopo l'irradiazione con UVB i siti sono stati così trattati:

- su due siti cutanei è stato applicato il gel contenente diclofenac, massaggiando saltuariamente il sito con una spatola per i successivi venti minuti e rimuovendo quindi con delicatezza l'eccesso di formulazione;
- su due siti sono stati applicati 100 mg di gel contenente tocoferolo acetato, massaggiando saltuariamente il sito con una spatola per i successivi venti minuti e rimuovendo quindi con delicatezza l'eccesso di formulazione;
- su due siti cutanei è stato applicato il gel contenente diclofenac utilizzando l'apparecchiatura Hydrofor (venti minuti) e rimuovendo quindi con delicatezza l'eccesso di formulazione;
- su due siti cutanei è stato applicato il gel contenente tocoferolo acetato utilizzando l'apparecchiatura Hydrofor (venti minuti) e rimuovendo quindi con delicatezza l'eccesso di formulazione;
- su due siti cutanei non è stata applicata alcuna formulazione in quanto questi siti sono stati utilizzati come controllo.

Trascorse 2 ore dalla applicazione delle formulazioni, l'eritema è stato monitorato per le successive 48 ore con uno spettrofotometro di riflettanza X-Rite mod.968. Lo strumento è stato calibrato secondo uno standard di bianco conforme a quanto previsto dal National Bureau of Standards utilizzando una sorgente di illuminazione C ed un angolo di osservazione di 2°. Lo spettrofotometro era connesso con un personal computer che, mediante un software fornito in dotazione con lo strumento (Spectrostart), era in grado di elaborare spettri di riflettanza della pelle nella regione 400-700 nm.

Nella Fig.1 sono riportati gli spettri di riflettanza relativi allo stesso sito cutaneo prima (curva a) e dopo (curva b) l'esposizione alle radiazioni UVB. Come è possibile constatare dalla curva b, lo spettro di riflettanza del sito cutaneo dopo esposizione alle radiazioni UVB mostra due bande di assorbimento: una singola vicino 400 nm e l'altra doppia compresa 540 e 580, relativi all'assorbimento dell'emoglobina.

Dai dati spettrali, forniti dallo strumento, è stato possibile cal-

colare nel tempo, per ciascun sito cutaneo testato ed utilizzando l'equazione sotto riportata, il valore dell'indice di eritema (I.E.), che rappresenta un importante parametro proposto da Dawson (15) per monitorare quantitativamente l'eritema cutaneo.

$$I.E. = 100 \left[\log \frac{1}{R_{560}} + 1,5 \left(\log \frac{1}{R_{540}} + \log \frac{1}{R_{580}} \right) - 2 \left(\log \frac{1}{R_{510}} + \log \frac{1}{R_{610}} \right) \right]$$

In questa equazione vengono sommati i valori dei logaritmi del reciproco della riflettanza di quelle lunghezze d'onda (540, 560, 580) alle quali si verificano picchi di assorbimento dell'emoglobina mentre vengono sottratti i corrispondenti valori delle lunghezze d'onda (510 e 610) il cui assorbimento è dovuto principalmente alla presenza della melanina.

I valori di base dell'I.E., determinati per ciascun sito prima dell'esposizione alle radiazioni UV B sono stati sottratti ai valori di I.E., calcolati ai differenti tempi per lo stesso sito, ottenendo in tal modo delle curve tipiche (Δ I.E.- tempo vedi Fig.2) dalle quali sono state calcolate le corrispondenti aree sottese (AUC). I valori delle AUC rivestono particolare importanza nella valutazione dell'eritema in quanto risultano inversamente proporzionali all'intensità ed alla durata dell'eritema stesso e quindi alla capacità dei prodotti di inibire la formazione dell'eritema.

Pertanto, per meglio confrontare l'efficacia delle singole formulazioni, utilizzando la formula sotto riportata, è stata calcolata la percentuale di inibizione dell'eritema (P.I.E.).

$$P.I.E.\% = \frac{AUC_{(C)} - AUC_{(T)}}{AUC_{(C)}} \times 100$$

Le AUC rappresentano le aree sotto la curva Δ I.E.- tempo dei siti trattati [AUC_(T)] o dei siti controllo [AUC_(C)]. L'analisi statistica dei risultati è stata effettuata usando il metodo t-test di Student.

Risultati

La Fig.2 mostra alcune curve tipiche, relative ad un singolo soggetto, ottenute riportando le variazioni dell'indice di eritema in funzione del tempo per i siti non trattati (controllo), per quelli trattati con le formulazioni in gel di diclofenac o di tocoferolo acetato e per quelli dove l'applicazione dei gel di diclofenac o di tocoferolo acetato è stata effettuata mediante l'apparecchiatura Hydrofor.

Dall'andamento del decorso eritematogeno, riportato nella Fig.2, risulta abbastanza evidente l'effetto inibitorio esercitato, a differenti gradi, dall'applicazione delle formulazioni in gel di tocoferolo acetato o di diclofenac. L'efficacia di questi gel nell'inibire il processo eritematogeno indotto sulla cute da esposizione alle radiazioni UVB appare comunque incrementata dall'utilizzo dell'apparecchiatura Hydrofor.

Come detto sopra, è possibile quantificare in modo obiettivo, mediante misure di spettrofotometria di riflettanza, il processo eritematogeno indotto e gli effetti esercitati su questo dall'appli-

Figura 1. Spettri di riflettanza della pelle ottenuti prima (curva a) e dopo esposizione a radiazioni UVB (curva b).

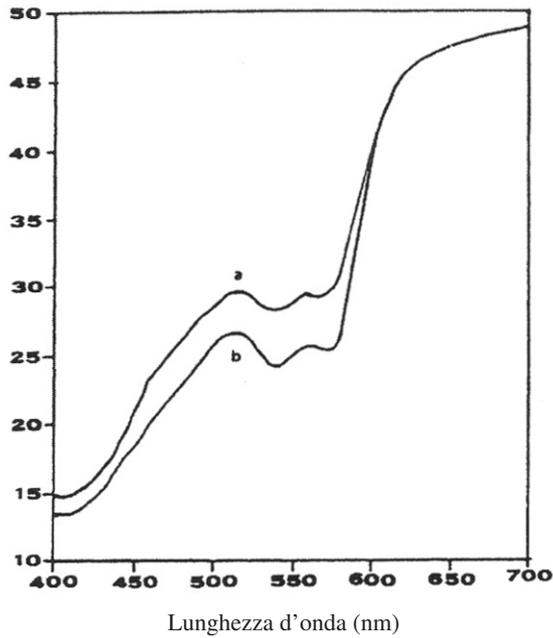


Figura 2. Variazioni dell'indice di eritema (Δ I.E.) in funzione del tempo ottenuti per i siti non trattati (controllo) e per i siti trattati con le differenti formulazioni e con l'ausilio dell'apparecchiatura Hydrofor.

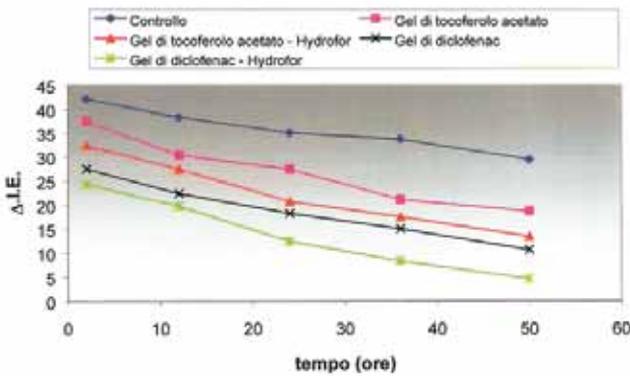


Tabella 1. Valori di AUC_{2-50} ottenuti per i siti non trattati e per i siti trattati con le formulazioni gel di tocoferolo acetato e gel di diclofenac applicati da soli o mediante trattamento con Hydrofor.

Trattamento	$AUC_{2-50} \pm S.D.$	P.I.E.
Controllo	1764.2 \pm 224.0	-----
Gel tocoferolo acetato	1280.4 \pm 95.2	27.4
Gel di tocoferolo acetato con Hydrofor	1055.6 \pm 82.3*	40.1
Gel di diclofenac	878.9 \pm 67.2	50.2
Gel di diclofenac con Hydrofor	618.7 \pm 55.2**	65.0

* $p < 0.01$ versus controllo e gel di tocoferolo acetato

** $p < 0.01$ versus controllo e gel di diclofenac

Figura 3. Percentuale di inibizione dell'eritema (P.I.E.) cutaneo indotto da radiazioni UV-B in volontari sani.

