

Pietro Santoianni

Professore Emerito di Dermatologia

Docente nel Dottorato di Ricerca in Dermatologia Sperimentale

Dipartimento di Patologia sistematica, Sezione di Dermatologia

Università di Napoli Federico II

www.DermatologyResearch.it

Antiossidanti endogeni e fotoprotezione

Sono qui riportate le attuali conoscenze sugli antiossidanti sperimentati per applicazione topica.

Quando la cute è irradiata, l'ultravioletto UVB e UVA come è noto provoca la formazione di specie reattive dell'ossigeno, stress ossidativo e formazione di radicali liberi. Ne risulta *alterazione* di proteine e di attività enzimatiche, *perossidazione* dei lipidi e danni delle *membrane cellulari*, soppressione della sintesi replicativa *del DNA e danni* mutageni. Inoltre vi è attivazione di una cascata di *mediatori cellulari*, con le conseguenti azioni e formazione di acido *cis-urocanico* che determina immunosoppressione.

La cute contiene numerosi
sistemi di protezione endogeni
 verso ROS e radicali liberi
interagenti tra loro

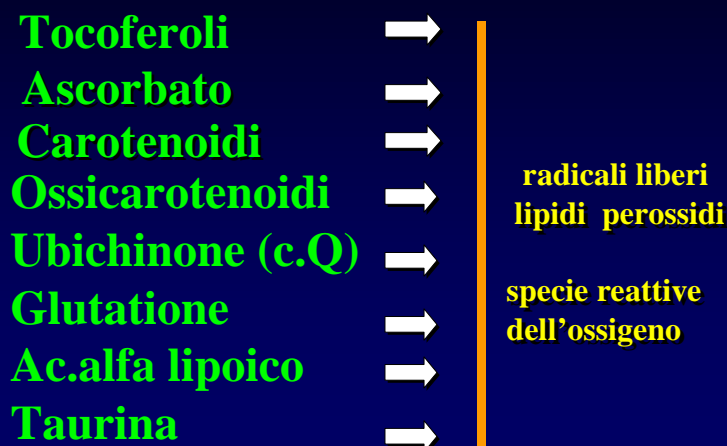
antiossidanti
scavengers di radicali liberi

La cute tuttavia contiene numerosi sistemi di protezione endogeni verso le specie reattive dell'ossigeno e i radicali liberi; sistemi di protezione interagenti tra loro.

Questa *capacità fotoprotettiva* della cute comprende *antiossidanti endogeni* non enzimatici ed enzimatici e attività *scavengers* di radicali liberi, (molecole queste capaci di "sacrificarsi" per eliminare radicali liberi, che vengano ad alterare molecole di maggiore importanza per la vitalità cellulare.)

Capacità fotoprotettiva della cute

antiossidanti endogeni non enzimatici
 scavengers radicali liberi



Elemento importante è la vitamina E presente nella epidermide e antiossidante fondamentale è l'ascorbato o vitamina C. Fra gli antiossidanti e scavenger dei radicali liberi sono da includere i

carotenoidi e gli ossicarotenoidi, il coenzima Q(ubichinone); il glutathione, (presente in notevole quantità nella epidermide), l'acido alfa-glicolico e altri antiossidanti.



Gli antiossidanti endogeni enzimatici sono rappresentati dalla superossidodismutasi (SOD), dalla catalasi, dalla GSH perossidasi (glutathioneperossidasi), dalla GSH reduttasi. Questi sono capaci di eliminare perossido di idrogeno (l'acqua ossigenata che si forma nello stress ossidativi ed è molto tossica per la cellula) e sono capaci inoltre di proteggere enzimi molto importanti (come la glutathioneperossidasi e la superossidodismutasi).

E' da tenere presente che la *sintesi* di questi enzimi antiossidanti è strettamente dipendente da alcuni cationi: selenio, zinco e rame.



Questo sistema complesso di difesa rappresenta un pool di antiossidanti che controlla gli effetti dell'ultravioletto.

E' interessante notare anche a questo proposito che la capacità antiossidante è più alta nelle cellule cheratinizzate rispetto agli strati terminali della epidermide.

antiossidanti endogeni e scavenger

Vit E

gruppo di tocoferoli e tocotrienoli
(alfa tocoferolo maggiore attività biologica)

- **controllo catena ossidativa**
- **attività scavenger**
- **altre attività (stabilizz. membrane, etc)•**

• Wolf RD, Ruocco V: JEADV 1998

Vediamo singolarmente alcuni di questi scavengers e antiossidanti.

La Vitamina E è un gruppo di *tocoferoli e tocotrienoli* nei quali *l'alfa – tocoferolo* rappresenta la maggiore attività biologica.

La vitamina E presenta principalmente *un'attività scavenger di radicali liberi* più che una capacità di controllo della catena ossidativa, e altre attività come la stabilizzazione delle *membrane* cellulari.

E' molto efficace per difendere dal danno UV.

antiossidanti endogeni e scavenger

Vit E

difende dal danno UV

effetto protettivo verso UVB e UVA * (colture di cheratinociti umani)

*deficit: aumento perossidi nella cute***

*irradiazione UV e VIS accentua il deficit **

* Quiec et al.: J Invest Dermatol 1995

* Kondo et al.: Photodermatol Photoimmunol Photomed 1990

* Werninghaus, Gilchrest et al.: Photodermatol Photoimmunol Photomed 1991

** Igarashi A et al.: Br J Dermatol 1989

E' stato dimostrato un *effetto protettivo verso sia l'UVB che l'UVA* in colture di cheratinociti umani. Ovviamente il *deficit* di vitamina E provoca aumento di perossidi nella cute ed è accentuato dalla radiazione UV e anche dal VIS.

L'applicazione di alfa-tocoferolo provoca aumento della vitamina nella cute di molte decine di volte, che *persiste ancora dopo irradiazione* di UV(tra i 290 e i 400).

antiossidanti endogeni e scavenger

Vit E

applicazione alfa tocoferolo:

- aumento della vitamina nella cute
(decine di volte)*
- dopo irradiazione UV (290-400 nm):
concentrazione ancora elevata

* Lopez-Torres et al.: Br J Dermatol 1998

Studi sull'applicazione topica nell'uomo hanno dimostrato che l'alfa-tocoferolo inibisce *l'eritema indotto dallo UV*, diminuisce la formazione di sunburn cells; e questo avviene anche se l'alfa-tocoferolo è applicato *dopo irradiazione*.

antiossidanti endogeni e scavenger

Vit E

alfa tocoferolo *studi sulla applicazione topica (uomo)*

- **inibisce l'eritema UV indotto ***
- **diminuisce la formazione di "sunburn cells"*****
prima e anche dopo irradiazione °

* De Rios et al.: J Invest Dermatol 1978

** Cesarini et al.: Photochem Photobiol 1988

° Potapenko et al.: Dermatol Monatssher 1983, e altri studi

La *prevenzione del fotodanno* si manifesta anche a carico del DNA: l'alfa-tocoferolo applicato anche *dopo* l'irradiazione induce una riduzione di circa il 50% della formazione di dimeri della timina e anche *riduzione della immunosoppressione indotta dall'UV*.

antiossidanti endogeni e scavenger

Vit E

prevenzione del fotodanno DNA

- **alfa tocoferolo 1%:**
-dopo irradiazione
ridotta di circa il 50 % formazione dimeri timina*
riduzione immunosoppressione da UV**

* Mc Vean M, Liebler DC: Carcinogenesis 1997

** Gensler, Magdaleno et al: Nutr Cancer 1991

Interessante è che la vitamina E è capace di *prevenzione* dei *danni sulla formazione di collagene* indotti dalle specie reattive dell'ossigeno (come è stato dimostrato mediante culture di fibroblasti). Così, il *deficit* di vitamina E induce aumento di collagene insolubile, (in sperimentazioni però su ratto) per inefficace protezione verso la formazione di perossidi. Pertanto la vitamina E rallenterebbe il danno ossidativo nell'*invecchiamento della pelle* attraverso protezione del collagene.

antiossidanti endogeni e scavenger

Vit E

- **prevenzione danni da ROS**
sulla produzione di collagene*
(colture di fibroblasti umani)
- **deficit : aumento di collagene insolubile****
(protezione da perossidi inefficace) (ratto)

rallenta il danno ossidativo nell'invecchiamento

* Tanaka et al.: Dermatol Res 1993

** Igarashi A et al.: Br J Dermatol 1989

L'alfa-tocoferolo è tuttavia *instabile* e la sperimentazione in campo di *dermocosmesi funzionale* ha portato all'accertamento che l'acetato ed altri esteri stabili possono essere convenientemente utilizzati.

Il tocoferolo acetato è assorbito e convertito a tocoferolo libero; riduce il danno da UV *applicato prima* dell'irradiazione dell'UVB o anche *dopo*, (svolgendo un ruolo nella eliminazione di fotoprodotti). Tuttavia alcuni recenti studi hanno dimostrato che il tocoferolo acetato è metabolizzato con notevole lentezza dalla cute, (cioè è deacetilato molto lentamente).

Vit E *alfa tocoferolo instabile*

- **tocoferolo acetato**
 - è **assorbito e convertito a tocoferolo libero***
 - **riduce il danno da UV**
prima dell'irradiazione UVB ed anche dopo :**
(ruolo nell'eliminazione fotoprodotti?)

tocoferolo sorbato

- è **molto attivo verso il danno da UV*****

* Norkus et al.: Photochem Photobiol 1993 ** Trevithick et al.: Scanning Microsc 1993 *** Jurkiewicz et al.: J Invest Dermatol 1995

Un altro antiossidante *endogeno* molto importante è rappresentato dall' acido ascorbico (ascorbato o vitamina C), che esercita una notevole *capacità fotoprotettiva* nella cute nel pool degli antiossidanti endogeni. E' capace di rigenerare i radicali formati da tocoferolo ed è a sua volta ridotto dai sistemi comprendenti coenzimi (NADH, etc)

Tutti gli studi hanno concordato nell'attribuire all'ascorbato una funzione centrale che può essere espressa dicendo che si tratta di una vera e propria riserva di attività antiossidante.

Capacità fotoprotettiva della cute **antiossidanti endogeni**

Asorbato

rigenera radicali tocoferolo
*radicale asorbato è ridotto
da sistemi comprendenti
NADPH-NADP+ NADH-NAD+*

riserva attività antiossidante

Un incremento del network antiossidante è realizzato, come attendibile da quanto si è detto, dall'applicazione di C e E insieme come è stato dimostrato con studi dopo irradiazione su animali di laboratorio. Si ha efficace fotoprotezione anche a dosi basse, cioè dopo singola applicazione.

Vit E e Vit C

applicazione di C ed E :

efficace *fotoprotezione* anche a dosi *basse*

(una singola applicazione) *prima* dell'irradiazione*

(studi su topo)

Incremento del network antiossidante

* Steenvoorden et al.: Int J Radiation Biol 1999

E' interessante che l'applicazione di alfa-tocoferolo provoca aumento di perossido dismutasi, di ascorbato e di GSH: *l'applicazione di vitamina E quindi provoca una up-regulation del sistema antiossidante endogeno.* Ne deriva che il sistema antiossidante può essere modulato cambiando un singolo parametro del pool. (L'aumento del tocoferolo probabilmente modula la regolazione *genica* degli antiossidanti enzimatici.) Vi è interdipendenza con gli altri antiossidanti con incremento pertanto della totale capacità antiossidante che può essere affidata anche ad uno solo degli antiossidanti.

Up-regulation del sistema antiossidante endogeno

applicazione *alfa tocoferolo*:
aumento di *SOD, ascorbato GSH*

*Il sistema antiossidante può essere modulato
cambiando un singolo parametro del pool*

L'aumento del tocoferolo probabilmente modula
la regolazione genica degli antiossidanti enzimatici

*Interdipendenza dei vari antiossidanti con
incremento della totale capacità antiossidante*

Una importanza notevole nella capacità fotoprotettiva della cute è attribuibile al glutathione, mal'applicazione locale di glutathione non è utile in quanto questo tripeptide non penetra attraverso la cute, mentre penetrano *derivati del glutathione* come l'etil estere. (Studi su animali di laboratorio hanno dimostrato un aumento del glutathione nell'epidermide in seguito all'applicazione di questo estere).

Fortemente attivo è il sistema costituito da glutathione e tocoferolo con ione selenio.

Capacità fotoprotettiva della cute **antiossidanti endogeni**

GSH
(glutathione non penetra)

-derivati del GSH (GSH etilestere)
-aumento GSH nell'epidermide* (studi su topo)

Sistema GSH – Se - Tocoferolo

* Steenvoorden et al.: Radiat Res 1998

Studi sull'applicazione topica degli esteri del glutathione hanno dimostrato un effetto fotoprotettivo e capacità di controllo della immunosoppressione indotta da UV. Anche altri precursori del glutathione come la cistina sono capaci di prevenire la immunosoppressione UV indotta.

E' notevole la importanza sulla prevenzione della immunosoppressione del glutathione e dei suoi precursori.

Studi sulla applicazione topica

- **Glutazione (esteri):**
 - *effetto fotoprotettivo*
 - controllo dell'*immunosoppressione UV* indotta
- **Cisteina (derivati):**
 - prevenzione dell'immunosoppressione UV indotta **
(topo)
 - effetto fotoprotettivo* mediato da inibizione formazione **cis-Urocanico**

* Steenvoorden et al.: Radiat Res 1998

Capacità fotoprotettiva sembra avere anche la taurina che realizza una protezione a livello delle membrane. La taurina è interessante perché è un aminoacido libero a livello tissutale che si riduce con l'età ma è disponibile per sintesi endogena soltanto per il 40%, il resto deve essere assunto attraverso alimentazione. L'UV inibisce l'enzima responsabile della sua formazione e la supplementazione topica sembra ridurre l'eritema indotto da UV secondo alcuni studi preliminari.

Capacità fotoprotettiva della cute

antiossidanti endogeni

Taurina

- aminoacido libero a livello tissutale
- neutralizza ROS e regola flussi ionici a livello biomembrane
- **si riduce con l'età - 40 %**
- **UV inibisce enzima responsabile formazione**
supplementazione topica riduce eritema UV indotto (uomo)

Un potente antiossidante endogeno è rappresentato dall'acido alfa-lipoico che è cofattore enzimatico delle deidrogenasi. *Penetra facilmente nella cute* ma è attivo trasformato in *acido diidrolipoico*.

Capacità fotoprotettiva della cute **antiossidanti endogeni**

Ac. alfa-lipoico

cofattore enzimatico tiolico delle deidrogenasi

- **penetra facilmente nella cute*** (*studi sperimentali su topi*)
e trasformato in **acido diidrolipoico**
potente antiossidante* (*studi su topo*)

* Podda et al.: Biochem Pharmacol 1996

Antiossidanti endogeni di rilievo sono i carotenoidi: betacarotene, licopene e ossicarotenoidi come zeaxantina e luteina.

I carotenoidi non richiedono rigenerazione: il loro "quencing" è di natura fisica e lascia la struttura intatta.

Tuttavia il betacarotene *reagisce meno del tocoferolo coi radicali liberi* ed è solo un *debole* antiossidante. Su animali di laboratorio è stata dimostrata per *applicazione topica* protezione dall'azione *eritemigena dell'UVB*. Inoltre *betacarotene evitamina E* sempre per applicazione topica riducono il danno degli enzimi antiossidativi indotto da UV.

Il sistema betacarotene, tocoferolo ed acido ascorbico protegge dall'azione eritemigena di UVB, in studi per applicazione topica.

Capacità fotoprotettiva della cute **antiossidanti endogeni**

Carotenoidi

beta-carotene, licopene, ossicarotenoidi (es. zeaxantina e luteina)

- **i carotenoidi non richiedono rigenerazione :“quencing”**
è di natura fisica e lascia la struttura intatta
- **Il beta-carotene reagisce meno del tocoferolo coi radicali liberi ed è solo debole antiossidante**
- **Studi sull'applicazione topica:**
 - **beta-carotene, tocoferolo, e ac. ascorbico**
proteggono dall'azione eritemigena di UVB* (studi su topo)
 - **beta-carotene e vit E**
riducono il danno degli enzimi antiossidativi da UVA° (studi su topo)

° Evelson P et al.: J Photochem Photobiol B 1997

* Shindo et al.: J Invest Dermatol 1993

Infine l'applicazione topica di enzimi del sistema antiossidante conduce a prevenzione di formazione delle cellule sunburn da parte di catalasi ed effetto protettivo per SOD(sempre su cute di animali di laboratorio).

Interessante infine è anche che l'emossigenasi, enzima la cui produzione è indotta dalla radiazione elettromagnetica è *uno dei sistemi di protezione naturale*. Questo comprende altre proteine indotte da stress. Rappresenta un interessante sistema di protezione nella fotoesposizione cronica. Questo è *l'unico enzima che consistentemente aumenta in seguito alla irradiazione indotta da UV mentre gli altri enzimi sono danneggiati dalla irradiazione*.

Studi sulla applicazione topica (enzimi)

UV

Catalasi



prevenzione delle cellule sunburn*

(studi in vitro)

SOD



effetto protettivo**(dati sperimentali su

topi)

Emossigenasi



produzione indotta da UV
attività di scavenger su ferro•

(< radicale idrossilico)

protezione dalla fotoesposizione cronica

* Miyachi Y et al.: Clin Exp Dermatol 1983 ** Miyachi Y et al.: J Invest Dermatol 1987

° Vile G et al.: Proc Natl Acad Sci Usa 1994

In conclusione *l'irradiazione UV attiva la capacità fotoprotettiva della cute*, tuttavia la maggior parte dei sistemi naturali di fotoprotezione diventa *insufficiente* dopo intensa e prolungata esposizione agli UV. La fotoprotezione locale e quella sistemica consentono di *incrementare tali sistemi*.

Sono molte le preparazioni contenenti antiossidanti per la fotoprotezione somministrabili per via sistemica, per diverse delle quali in realtà sono in corso gli studi sui risultati sicuramente ottenibili.