



Assorbimento di lipidi ed occlusione della pelle in seguito ad applicazione topica di oli sulla cute di adulti e bambini

Georgios N. Stamatas^{a,*}, Johanna de Sterke^b, Matthias Hauser^c,
Otto von Stetten^c, André van der Pol^b

^a Johnson & Johnson Consumer France SAS, 1 rue Camille Desmoulins, Issy-les-Moulineaux 92787, Francia

^b River Diagnostics BV, Rotterdam, Paesi Bassi

^c Johnson & Johnson Consumer Germany, Düsseldorf, Germania

Ricevuto il 5 settembre 2007; ricevuto in forma rivista il 13 novembre 2007; accettato il 14 novembre 2007

KEYWORDS

Spettroscopia Raman;
olio di paraffina;
oli vegetali;
occlusione
barriera cutanea;
assorbimento
percutaneo; strato
corneo

Riassunto

Background: l'applicazione topica di oli e preparati a base oleosa è una pratica cosmetica praticata da anni per prendersi cura della cute di adulti e bambini. Tuttavia, ad oggi, sono disponibili solo informazioni limitate riguardo alla penetrazione cutanea e al loro potenziale occlusivo e le tradizionali metodologie impiegate per la misurazione dell'idratazione cutanea sono poco adatte a misurare l'effetto idratante degli oli.

Obiettivo: Nel presente studio abbiamo utilizzato la microspettroscopia Raman confocale *in vivo* per testare l'efficacia dell'olio di paraffina (olio minerale) e di due oli vegetali in termini di penetrazione cutanea e occlusione. Come controllo positivo è stato usato il petrolato.

Metodi: I prodotti sono stati applicati per via topica sugli avambracci di nove volontari e sette bambini e sono stati acquisiti spettri Raman prima e a 30 e 90 minuti dall'applicazione. Dagli spettri Raman sono stati calcolati i profili di concentrazione in profondità per lipidi ed acqua. L'occlusione della pelle è stata valutata in funzione dell'entità di gonfiore dello strato corneo (SC).

Risultati: L'olio di paraffina e gli oli vegetali penetrano negli strati superiori dello SC con profili di concentrazione analoghi, un risultato confermato sia negli adulti che nei neonati. I tre oli testati hanno mostrato gonfiore dello SC modesto (10-20%) rispetto al gonfiore moderato (40-60%) provocato dal petrolato.

Conclusione: Questi dati provano che non esiste alcuna differenza statistica tra l'olio di paraffina e gli oli vegetali in termini di penetrazione cutanea ed occlusione cutanea. I risultati per il petrolato evidenziano che la microspettroscopia Raman confocale *in vivo* è sufficientemente sensibile e specifica a misurare sia gli eventi di assorbimento di lipidi che di occlusione cutanea a seguito di applicazione topica.

© 2007 Japanese Society for Investigative Dermatology. Pubblicato da Elsevier Ireland Ltd. Tutti i diritti riservati.

* Autore corrispondente. Tel.: +33 155004652.

Indirizzo e-mail: gstamat@cpcus.jnj.com (G.N. Stamatas).

1. Introduzione

Sin dall'antichità gli oli vengono utilizzati nella cura e nella protezione della pelle sia in forma pura sia come ingredienti per altre preparazioni. L'applicazione topica di oli modifica le proprietà meccaniche della pelle rendendola più elastica [1]. Inoltre gli oli sono noti per la loro capacità di idratare i tessuti. Dato che per natura gli oli sono idrofobici, l'idratazione fornita non dipende dall'apporto esterno di acqua, ma dalla preservazione dei lipidi propri dello strato corneo (SC) in modo da garantire una migliore funzione di barriera [2]. Pertanto, si presume che la concentrazione di acqua nello SC, lo strato superficiale dell'epidermide che svolge la funzione di barriera, possa modificarsi in seguito all'applicazione di olio.

Nonostante si sia fatto uso di un gran numero di oli, incluso l'olio di paraffina (olio minerale), oli di origine vegetale (oli vegetali) e oli di origine animale, disponiamo di conoscenze limitate in termini di assorbimento dei lipidi, penetrazione cutanea o potenziale occlusivo in seguito a loro applicazione topica. L'assorbimento di lipidi è stato studiato in vitro su campioni di pelle umana [3], ma a nostra conoscenza, non esiste alcuno studio scientifico comparativo in vivo che analizzi la penetrazione dell'olio nella cute. Vengono riferiti casi di occlusività di diversi oli in cui si utilizza come indicatore indiretto la perdita transepidermica di acqua [4-8], ma i problemi inerenti a questo metodo non consentono di pervenire a conclusioni chiare.

L'idratazione cutanea viene spesso misurata mediante metodi basati sulle proprietà elettriche della pelle. Una pelle ben idratata ha generalmente una maggiore conduttività elettrica e una minore capacità rispetto alla pelle secca, a causa della maggiore mobilità ionica in un ambiente acquoso. Questi principi, tuttavia, non valgono per l'applicazione topica di oli. La mobilità degli ioni è piuttosto ridotta in una fase lipidica rispetto ad una fase acquosa e la costante dielettrica degli oli aumenterebbe piuttosto la capacità cutanea. Pertanto, la misurazione dell'idratazione conferita in seguito all'applicazione di olio è difficile o impossibile utilizzando dei metodi elettrici [9].

Un metodo alternativo per misurare l'idratazione cutanea e allo stesso tempo il potenziale occlusivo e la penetrazione nella cute è la microspettroscopia Raman in vivo [10]. Questo metodo è un modo non invasivo per studiare gli eventi biochimici cutanei a livello molecolare [11]. La maggior parte delle biomolecole presenta dei segnali Raman. Gli spettri Raman si suddividono in una regione energetica più bassa (400-2000 cm^{-1}) e una più alta (2500-4000 cm^{-1}). La prima regione, nota anche come l'impronta digitale dello spettro, trasporta informazioni altamente specifiche sulle firme molecolari. L'ultima regione presenta segnali dovuti a vibrazioni di stiramento ad alta frequenza dei

protoni molto leggeri come quelli presenti in gruppi OH, NH e CH. Questa regione consente la misurazione separata di segnali inviati da acqua, lipidi e proteine.

Il presente studio aveva un triplice scopo: (a) confrontare l'olio di paraffina con due oli vegetali in termini di assorbimento di lipidi e occlusione della pelle, (b) confrontare il comportamento della pelle di adulti e neonati rispetto all'applicazione topica di diversi oli e (c) verificare l'opportunità di usare la microspettroscopia Raman in vivo per misurare l'assorbimento di lipidi e l'occlusione cutanea in seguito all'applicazione topica di oli. Abbiamo esaminato l'olio di paraffina (paraffinum liquidum), l'olio di mandorle dolci (rappresentante i trigliceridi di origine vegetale) e l'olio di jojoba (rappresentante gli esteri di cera liquidi) in rappresentanza degli oli non polari. Per la convalida del metodo abbiamo utilizzato il petrolato in qualità di controllo positivo per l'occlusione della pelle. Utilizzando profili di concentrazioni di lipidi ed acqua abbiamo sviluppato un algoritmo che mirava a calcolare l'assorbimento di lipidi e la penetrazione cutanea e a valutare l'occlusione della pelle sulla base dell'aumento dello spessore dello SC (gonfiore) in seguito all'applicazione di olio.

2. Materiali e metodi

2.1. Materiali

Il petrolato è stato acquistato da Univar (Bradford, UK). L'olio di jojoba (estere di cera premuto a freddo) e l'olio raffinato di mandorle dolci sono stati acquistati da John L. Seaton & Co. Ltd. (East Yorkshire, UK). L'olio di paraffina (di tipo "farmaceutico") è stato acquistato da Sonneborn (Haarlem, Paesi Bassi). I preparati di olio utilizzati erano estratti ottenuti da fonti vegetali (olio di mandorle, olio di jojoba) o frazioni della distillazione raffinata di fonti minerali (olio di paraffina, petrolato). In quanto tale la composizione molecolare di ogni preparato è una miscela di idrocarburi paraffinici principalmente lunghi aventi, lunghezze variabili della catena. Queste miscele sono generalmente caratterizzate dalle loro proprietà fisiche. Qui di seguito vengono elencate le proprietà dei prodotti utilizzati:

- a. Olio di jojoba: estere ceroso a catena lineare (C36-C46), giallo scuro, odore molto debole, liquido, $T_{\text{melt}} = 7-9\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- b. Olio di mandorle dolci: olio raffinato, giallo chiaro trasparente, odore debole, liquido, $T_{\text{melt}} = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$
- c. Olio di paraffina: olio minerale raffinato, incolore, odore molto debole, liquido, $T_{\text{melt}} = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$, composto principalmente da idrocarburi saturi a catena lineare, avente numeri di carbonio generalmente superiori a C20.
- d. Petrolato: prodotto minerale raffinato, bianco, pasta viscosa, $T_{\text{melt}} = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, costituito principalmente da idrocarburi cristallini e liquidi

aventi numeri di carbonio generalmente più alti di C25. Si noti che la distribuzione del peso molecolare del petrolato è generalmente molto più ampia di quella dell'olio di paraffina [12].

2.2. Disegno dello studio

In un primo studio la popolazione sottoposta al test era composta da nove volontari di razza bianca (otto donne e un uomo) con pelle normale e di età compresa fra i 30 e i 60 anni. Su un'area quadrata di 2 cm x 2 cm sulla faccia volare dell'avambraccio (due siti per ogni braccio) dei volontari sono stati applicati venti microlitri di ogni prodotto (olio di paraffina, olio di mandorle dolci, olio di jojoba e petrolato). Le misurazioni Raman sono state effettuate prima dell'applicazione (baseline) e 30 e 90 min. dopo l'applicazione del prodotto. Prima di ogni serie di misurazioni Raman la cute è stata strofinata delicatamente per rimuovere l'olio in eccesso dalla superficie. Dopo la misurazione di 30 min. è stata riapplicata la stessa quantità d'olio sul sito di misurazione. In un secondo studio abbiamo seguito un protocollo simile su sette neonati di razza bianca (cinque maschi e due femmine) con pelle normale e di età compresa fra i 6 e i 10 mesi. In questo studio sono stati testati solo l'olio di paraffina e l'olio di mandorle dolci (un prodotto per braccio) e sono state effettuate delle misurazioni alla baseline e 30 min. dall'applicazione del prodotto. Dal momento che lo studio coinvolgeva dei neonati, il protocollo è stato trasmesso e approvato da un comitato etico indipendente. Tutti gli studi sono stati condotti in conformità con la Dichiarazione di Helsinki.

2.3. Strumentazione

Le misurazioni sono state effettuate con un analizzatore della composizione cutanea di River Diagnostics, mod. 3510 (River Diagnostics BV, Rotterdam, Paesi Bassi). La lunghezza d'onda del laser era di 671 nm. Il tempo di acquisizione era di 1 s per spettro e l'incremento in direzione z (profondità) era di 2 mm per tutte le misurazioni (4 μm per lo studio sui neonati). In genere le misurazioni sono state condotte sui primi 36 μm dalla superficie cutanea all'interno del tessuto. Il volume raccolto per ogni spettro è approssimativamente cilindrico con risoluzione laterale di 1 μm e risoluzione assiale di 5 μm . Sono state eseguite una serie di misurazioni nello stesso punto del braccio a profondità diverse. La procedura è stata ripetuta 12 volte per area trattata in ogni time point. Le concentrazioni di profondità per i lipidi e l'acqua sono state calcolate dagli spettri come spiegato più avanti.

2.4. Calcoli dei segnali Raman dell'acqua e dei lipidi

Per le nostre analisi si fa riferimento a tre regioni spettrali

(Fig. 1a) che rappresenta principalmente segnali da: (a) Gruppi CH_2 presenti nei lipidi ($2820\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$), (b) Gruppi CH_2 presenti nella cheratina ($2910\text{--}2965\text{ cm}^{-1}$) e (c) gruppi OH di acqua ($3350\text{--}3550\text{ cm}^{-1}$). Le intensità integrate in queste regioni dopo la baseline correction servono come fattori quantitativi per valutare l'abbondanza relativa delle specie molecolari corrispondenti (lipidi, cheratina e acqua). La cheratina viene utilizzata come riferimento interno nel senso che i segnali dovuti all'acqua e ai lipidi sono normalizzati dal segnale della cheratina. La normalizzazione annulla le perdite di segnali Raman in posizioni sempre più profonde dovute all'opacità dello SC. Per il calcolo delle concentrazioni di acqua abbiamo seguito il metodo descritto da Caspers et al. [10].

2.5. Valutazione dello spessore dello SC in base alla concentrazione di acqua

L'occlusione cutanea causata da oli aumenta il tenore acquoso dello SC. Lo SC si gonfia per fare posto alla maggiore quantità d'acqua. Per questo abbiamo valutato l'occlusione cutanea in seguito all'applicazione di olio, registrando l'aumento dello spessore dello SC, in base alla misurazione delle concentrazioni di acqua. La fig. 1b illustra un confronto tra due concentrazioni di acqua misurate nello stesso punto dell'avambraccio di un volontario prima e dopo l'applicazione di olio. Il profilo della pelle non trattata mostra un elevato gradiente di concentrazione di acqua che presenta un livello massimo a una profondità di circa 20 μm dove viene raggiunta l'epidermide vitale. Per la pelle trattata (gonfia) il punto in cui si raggiunge il livello massimo della concentrazione di acqua è situato più in profondità. Per situare oggettivamente l'interfaccia epidermica vitale dello SC abbiamo sviluppato un modello descrittivo per i profili di concentrazione di acqua. La metodologia verrà presentata e discussa in dettaglio in una relazione separata (manoscritto in corso di redazione) e verrà spiegata solo brevemente nel presente articolo. Nel nostro modello il doppio strato epidermico vitale dello SC è rappresentato da due mezzi omogenei, ognuno dei quali ha un proprio coefficiente di diffusione dell'acqua. In condizioni steady-state il flusso d'acqua è considerato costante. In queste condizioni viene applicata la prima legge di Fick della diffusione e i gradienti di concentrazione di acqua devono essere lineari in entrambi i mezzi. La concentrazione sperimentale di acqua viene descritta con una funzione che consiste in due parti lineari (una per lo SC e l'altra per l'epidermide vitale). Le due parti lineari presentano curve positive (anche se differenti) e rappresentano rispettivamente i gradienti di concentrazione dell'acqua nello SC e nell'epidermide vitale. Inoltre questa funzione del modello è convoluta da una funzione di diffusione del punto ottica, una funzione gaussiana con larghezza a metà altezza di 5 μm . Questa funzione di diffusione del punto forma la risoluzione spaziale della tecnica Raman confocale.

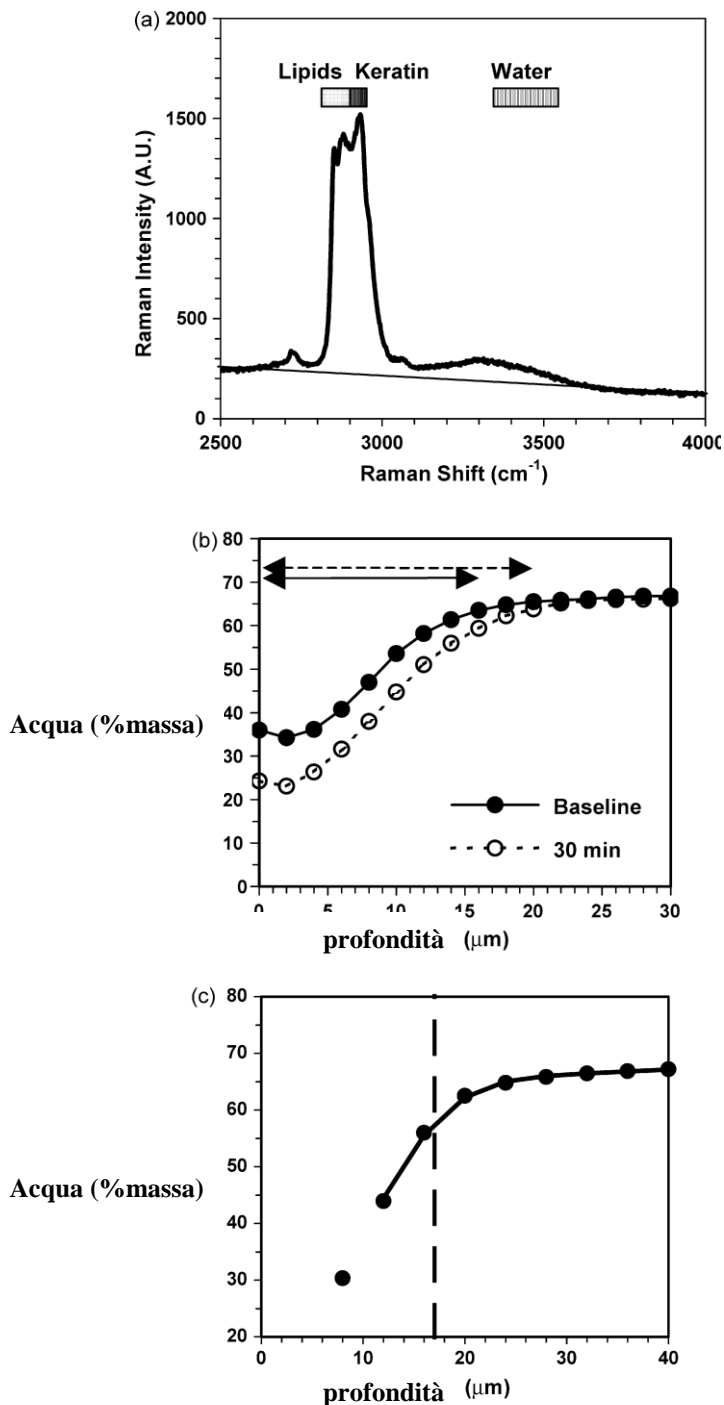


Fig. 1 (a) Tipico spettro Raman nella regione ad alti numeri d'onda della cute trattata con un olio. Sono indicate (da sinistra a destra) tre regioni di integrazione nello spettro, che rappresentano sostanzialmente i lipidi (2820 - 2900 cm^{-1}), la cheratina (2910 - 2965 cm^{-1}) e l'acqua (3350 - 3550 cm^{-1}). Viene mostrata anche una baseline lineare che interseca i punti a 2600 e 3800 cm^{-1} .

(b) Esempi di profili di concentrazione di acqua prima (linea continua, cerchi pieni) e 30 min. dopo il trattamento (linea tratteggiata, cerchi aperti) con petrolato. La concentrazione di acqua (% di massa) è determinata in funzione della profondità sotto la superficie della pelle. Le frecce indicano la posizione approssimativa dell'interfaccia epidermica dello SC. (c)

Le variabili indipendenti nel nostro modello sono: (a) lo spessore dello SC (p. es. la posizione di profondità dell'interfaccia dell'epidermide vitale dello SC), (b) la rispettiva concentrazione di acqua sull'interfaccia, (c) la curva della concentrazione d'acqua nello SC e (d) la curva della concentrazione d'acqua nell'epidermide vitale. Otteniamo questi parametri adattando l'equazione summenzionata al corrispondente profilo di acqua (l'adattamento dei dati è stato eseguito utilizzando l'add-in Solver in Microsoft Excel 2000). Per consentire all'algoritmo di aggiustamento di evitare la conversione ai minimi locali abbiamo aggiunto le seguenti condizioni: (a) il profilo di concentrazione dell'acqua deve presentare una curva maggiore nello SC rispetto all'epidermide, (b) la concentrazione di acqua sulla superficie deve essere non-negativa, (c) la concentrazione d'acqua sull'interfaccia dell'epidermide vitale dello SC deve essere superiore al 40% (un valore scelto arbitrariamente fra quello dell'umidità esterna (20%) e la saturazione del tessuto (70%)) e (d) la concentrazione di acqua deve aumentare in modo monotonicamente con l'aumento della profondità. Per la misura vengono prese in considerazione solo profondità maggiori di 10 μm per evitare la potenziale perturbazione nei segnali dei lipidi e dell'acqua. La fig. 1c illustra un tipico risultato di aggiustamento. Per ogni singolo profilo di concentrazione dell'acqua abbiamo estratto lo spessore dello SC (la posizione dell'interfaccia dell'epidermide vitale dello SC in μm sotto la superficie cutanea). Il gonfiore dello SC dovuto all'applicazione di olio è stato calcolato come cambiamento percentuale dalla baseline nello spessore dello SC.

2.6. Quantificazione del tenore lipidico di SC dagli spettri Raman

Tenore lipidico assoluto (p. es. la percentuale di massa come nel caso dell'acqua) non è stata quantificata in questo studio. Tuttavia i tenori lipidici assorbiti relativi (sempre rispetto alla cheratina) sono stati misurati in modo tale che i rapporti reciproci degli oli assorbiti riflettano i rapporti molari. Inizialmente è stato misurato il segnale Raman degli oli puri ed è stato calcolato l'integrale sotto la regione lipidica dello spettro (2820-2900 cm^{-1}). Si ipotizza che: vengano campionati volumi di misurazione ugualmente ampi quando si misurano gli oli puri testati e (b) la densità dell'olio sia approssimativamente la stessa. Gli oli sono stati misurati con energia laser analoga. In base a queste premesse l'integrale rappresenta una resa (o sensibilità) di segnale Raman intrinseca del particolare olio. Abbiamo misurato

un esempio relativo di un risultato di interpolazione di una curva (linea) per la modellizzazione dello spessore dello strato corneo da un profilo sperimentale di concentrazione di acqua (cerchi pieni). L'interfaccia fra lo strato corneo e l'epidermide vitale è contrassegnata dalla linea tratteggiata. I dati qui mostrati sono quelli della pelle non trattata.

Sensibilità di 0,57, 0,64, 0,7 e 1 rispettivamente per olio di mandorle dolci, olio di jojoba, olio di paraffina e petrolato. Facendo riferimento alla fig. 1 a, l'integrale per la regione lipidica (normalizzata dal segnale integrato dalla cheratina) rappresenta tutto il materiale lipidico presente, sia naturale che esogeno. Tali valori sono stati corretti per i segnali degli oli cutanei naturali, sottraendo la corrispondente misurazione d'olio della pelle non trattata (profilo medio di 12 misurazioni ripetute). Alla fine tutte le rispettive quantità di lipidi assorbite nello SC sono state divise per le corrispondenti rese Raman (sensibilità), determinando rapporti di contenuto che riflettono i rapporti molari.

2.7. Analisi statistica

Le misurazioni sono state effettuate in media dodici volte (per ogni volontario, trattamento e time point). I dati mostrati sono presentati come ± 1 medio

1 S.D. delle misurazioni per i nove volontari o i sette neonati rispettivamente (per ogni trattamento e time point) salvo diversamente stabilito. Tutte le analisi statistiche sono state condotte utilizzando MINITAB1 Release I4 (Minitab Inc, State College, PA) e Microsoft Excel 2000 (Microsoft Corporation, Redmont, WA). Il confronto delle due serie di dati è stato determinato usando il t-test di Student, in seguito a conferma della distribuzione normale usando il test di normalità di MINITAB

ed è stata ipotizzata la significatività statistica al livello $P = 0,01$.

3. Risultati

3.1. Gli oli di paraffina e vegetali penetrano nella pelle in modo analogo

La quantità relativa di lipidi totali (la banda CH_2 per i lipidi normalizzata alla banda CH_2 per la cheratina) come funzione della profondità della pelle è mostrata nella fig. 2 nello studio sugli adulti. In tutti i time point il rapporto molare dei lipidi è maggiore nello SC rispetto all'epidermide vitale. Alla baseline questo rapporto indica la quantità di lipidi naturali per la pelle e in successivi time point indica la somma di lipidi naturali della pelle più quelli applicati dall'esterno. In seguito all'applicazione dei prodotti testati si è riscontrato un lieve, ma significativo aumento dei lipidi totali del primo strato dello SC. Tale aumento era misurabile sia dopo 30 min. che dopo 90 min. dall'applicazione e a livelli statisticamente analoghi (nessuna differenza tra i due time point per tutti i trattamenti). L'aspetto interessante è che l'aumento dei lipidi totali è stato maggiore per il petrolato rispetto agli altri trattamenti. Da ciò si evince che il petrolato penetra con maggiore facilità e in maggiore profondità nello SC. I profili di profondità delle quantità di

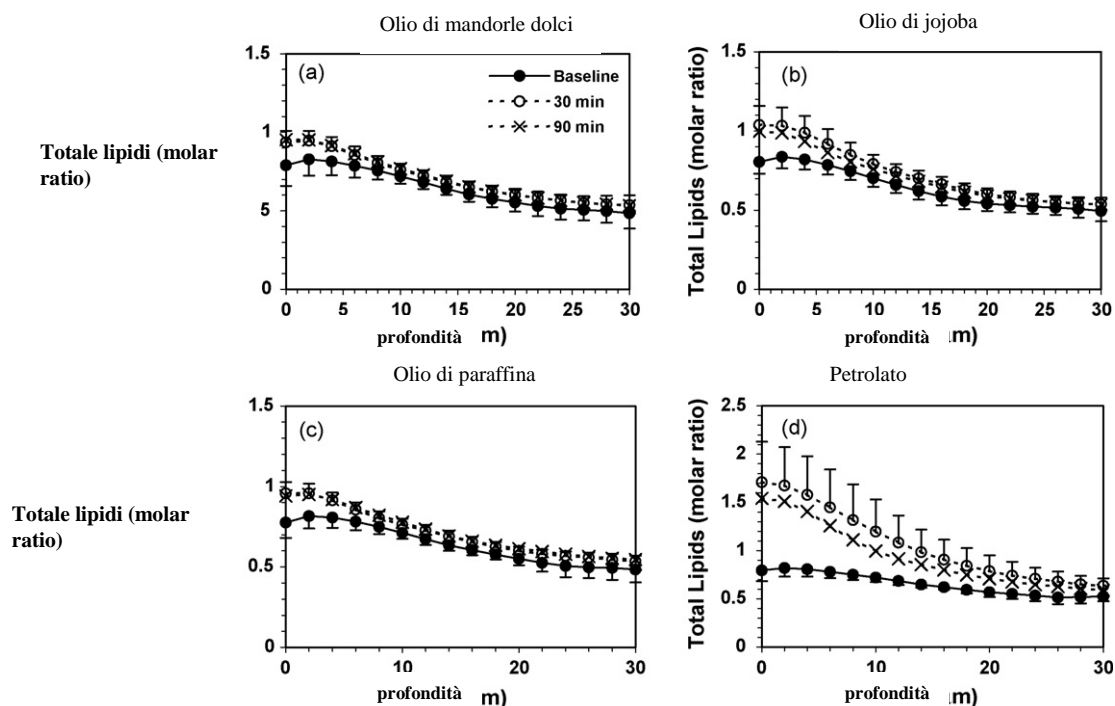


Fig. 2 Profili di concentrazioni relative di lipidi totali alla baseline (linea continua, cerchi pieni) e a 30 (linea tratteggiata, cerchi aperti) e 90 min (linea tratteggiata,) in seguito all'applicazione di: (a) olio di mandorle dolci, (b) olio di jojoba, (c) olio di paraffina e (d) petrolato. I dati sono rappresentati come medie \pm 1 S.D. per la baseline e le misurazioni di 30 min. Per maggiore chiarezza le barre di errore sono omesse per il time point di 90 min. (sono della stessa categoria delle misurazioni di 30 min.)

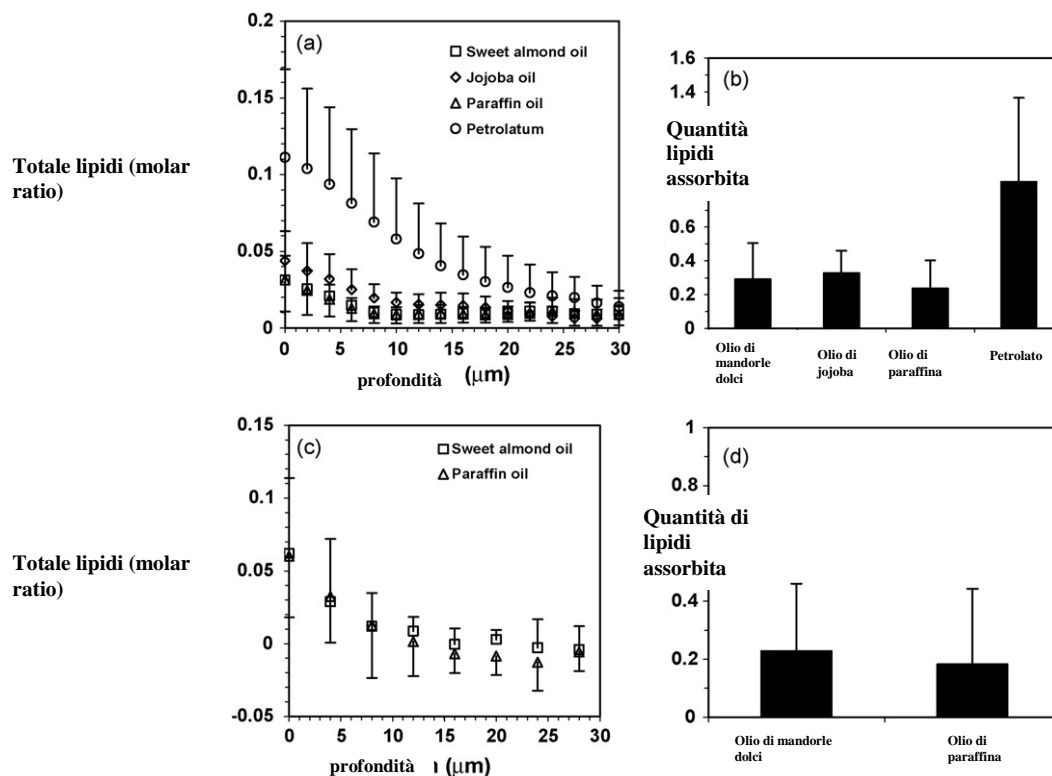


Fig. 3 (a) Profili di concentrazione lipidica della pelle adulta in seguito a sottrazione dei valori di baseline. (b) Quantità di lipidi relativa assorbita dalla pelle adulta nei primi 30 μm , 30 min dopo l'applicazione. L'assorbimento di lipidi per il petrolato era statisticamente superiore rispetto ad ognuno degli altri trattamenti. (c) Profili di concentrazione lipidica per la pelle dei neonati in seguito a sottrazione dei valori di baseline. (d) Quantità relativa di lipidi assorbita dalla pelle dei neonati nei primi 30 μm , 30 min dopo l'applicazione. Non esiste alcuna differenza statistica tra i due oli testati.

lipidi applicati esternamente che sono penetrati nella cute erano calcolati dopo la sottrazione dei livelli di baseline dei lipidi e la normalizzazione alle intensità dei segnali delle sostanze pure corrispondenti (fig. 3a). Si possono riscontrare quantità misurabili degli oli applicati (olio di mandorle dolci, di jojoba e di paraffina) nei primi 6-8 μm dello SC. Sebbene l'olio di jojoba sembri penetrare con maggiore facilità e in maggiore profondità rispetto agli altri due, non abbiamo rilevato una differenza statistica tra i profili dei tre oli. Tuttavia il petrolato penetrava più in profondità (fino a 30 μm) e in quantità 3-4 volte superiori rispetto agli altri tre oli (fig. 3b). Nello studio sui neonati sono stati riscontrati profili di penetrazione simili (fig. 3c) e un assorbimento di lipidi totale (fig. 3 d) per l'olio di paraffina e l'olio di mandorle dolci. I risultati evidenziano che la cute dei neonati si comporta come quella degli adulti in termini di assorbimento di lipidi.

3.2. Gli oli di paraffina e vegetali determinano quantità analoghe di occlusione

Lo spessore dello SC è stato misurato dai profili di tenore d'acqua. È stato misurato che lo spessore medio di SC al livello basale era di $17 \pm 2 \mu\text{m}$. In seguito all'applicazione dei materiali del test vi è stato un aumento dello spessore dello SC. Tale aumento è stato lieve (dell'ordine del 10%), ma analogo per tutti e tre gli oli (fig. 4a). L'effetto occlusivo era molto più pronunciato per il petrolato che si è rivelato un efficace agente occlusivo della cute. Il dato atteso per il petrolato

conferma la validità del metodo di misurazione dell'effetto occlusivo dei prodotti applicati per via topica. Il gonfiore dello SC era analogo per i due time point misurati, in seguito ad applicazione topica di tutti i trattamenti. Risultati analoghi sono stati riscontrati nella popolazione di neonati (fig. 4b). Anche questo sottolinea che la cute dei neonati si comporta in modo analogo a quella degli adulti in termini di occlusione in seguito ad applicazione topica di lipidi.

4. Discussione

A fronte delle limitate conoscenze sulla penetrazione cutanea e sul potenziale occlusivo di diversi tipi di olio in seguito ad applicazione topica e all'imperfezione dei metodi elettrici per la misurazione in vivo dell'idratazione cutanea indotta dagli oli, nel presente studio abbiamo testato l'utilità dell'uso della microspettroscopia Raman in vivo.

Abbiamo usato questo metodo per misurare

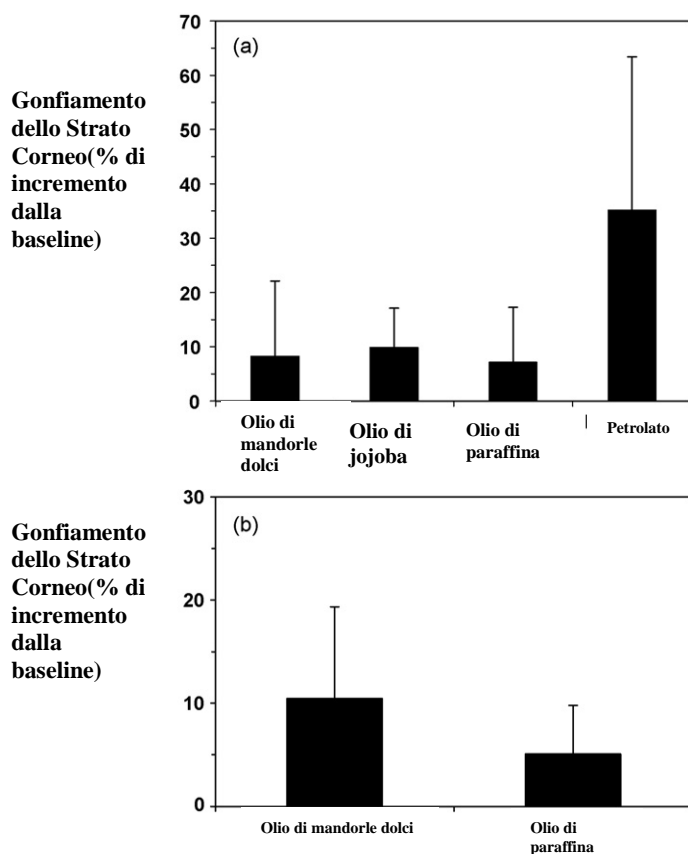


Fig. 4 (a) Incremento relativo dello spessore dello strato corneo della pelle degli adulti dopo 30 min. dal trattamento. Il valore per il petrolato era statisticamente superiore rispetto ad ognuno degli altri trattamenti. (b) Incremento relativo dello spessore dello strato corneo della pelle dei neonati dopo 30 min. dal trattamento. Non esiste alcuna differenza statistica tra i due oli testati.

l'assorbimento lipidico e l'occlusione cutanea in seguito all'applicazione topica di oli nel confronto con l'olio di paraffina con due oli vegetali, incluso l'olio di mandorle dolci e l'olio di jojoba.

Le molecole che trasportano i legami (nel caso dell'acqua il legame OH). Il suo maggior vantaggio sui metodi elettrici è che le misurazioni sono indipendenti dal meccanismo di idratazione.

La spettroscopia Raman abbinata ad un dispositivo confocale consente l'acquisizione di spettri a diverse profondità in modo non invasivo all'interno del tessuto cutaneo. I profili di concentrazione delle biomolecole possono essere costruiti come funzione della profondità dalla superficie cutanea usando questo dispositivo [13]. Recentemente è stata presentata una relazione sulle applicazioni della spettroscopia Raman

nell'ambito della fisiologia della cute [14]. Di particolare interesse per la fisiologia della cute è il profilo di concentrazione dell'acqua attraverso lo SC. Il gradiente acquoso fra la superficie della pelle e

l'epidermide vitale è indicativo della capacità dello SC di svolgere la funzione di barriera, senza la quale il tessuto si disidraterebbe fino alla sua necrosi.

Lo SC adatta gli aumenti del tenore idrico aumentando il suo volume (gonfiore). Norle'n et al. [15] hanno mostrato al microscopio ottico che per la pelle sezionata, il gonfiore dovuto all'idratazione si verifica essenzialmente in termini di spessore. Caspers et al. [13] hanno dimostrato che dai profili di concentrazione molecolare ottenuti tramite spettroscopia Raman confocale, si può valutare lo spessore dello SC. Le variazioni dello spessore dello SC sono state osservate in vivo come funzione del sito del corpo e dell'invecchiamento [16], nonché in seguito a diversi trattamenti topici (risultati non pubblicati, River Diagnostics). In vivo sulla cute umana è stato mostrato il rigonfiamento dello SC in seguito all'applicazione prolungata di un idratante commerciale [17]. In quello studio la posizione dell'interfaccia epidermica dello SC è stata stimata direttamente dai profili di concentrazione molecolare dell'acqua e del fattore d'idratazione naturale. Il rapporto fra la posizione dopo e quella prima dell'applicazione fornisce un'indicazione del gonfiore.

Per quanto ne sappiamo questa è la prima volta che viene usata la microspettroscopia Raman in vivo per valutare e confrontare i profili di concentrazione cutanea legati a lipidi applicati esternamente. Abbiamo scoperto che i profili e l'assorbimento integrato di lipidi in seguito all'applicazione topica di oli erano statisticamente simili per gli oli di paraffina e gli oli vegetali.

I risultati di questo studio relativi all'analogia dell'azione di olio di paraffina e di oli vegetali sono in accordo con uno studio pubblicato in precedenza, il quale mostrava che un olio vegetale (olio di cocco) è un idratante efficace e sicuro quanto l'olio di paraffina [4, 8]. In un altro studio è stato evidenziato che l'olio di paraffina è equivalente a un olio vegetale (olio di noce di kukui) nel trattamento delle lesioni psoriasiche e per lenire la pelle secca e gli arrossamenti [18].

Infine, si ritiene comunemente che le proprietà occlusive dei prodotti a base di petrolato derivino dal fatto che il petrolato si trattiene sulla superficie dello SC e non penetra. Tuttavia i nostri risultati invalidano questo assunto e sono in accordo con un lavoro pubblicato precedentemente [19]. Si noti che la maggiore penetrazione di petrolato è indipendente dalla sua elevata sensibilità Raman, dato che i profili dell'olio sono già stati normalizzati alle rispettive sensibilità Raman. Una spiegazione per la maggiore penetrazione del petrolato nello strato corneo può ritrovarsi nella somiglianza chimica dei costituenti del petrolato e di quelli dei lipidi dello strato corneo. La maggior parte dei lipidi dello strato corneo è costituita da sfingolipidi, steroli liberi, acidi grassi liberi, trigliceridi e specie altamente non polari (n-alcani e squalene) con catene che vanno

da C19 a C34 [20]. Pertanto, le catene lipidiche dell'olio di jojoba potrebbero essere troppo lunghe (C36-C46) per penetrare in profondità quanto i lipidi del petrolato. Tuttavia, questo potrebbe non spiegare la differenza fra il profilo di penetrazione del petrolato e quelli dell'olio di mandorle dolci e dell'olio di paraffina, in quanto tutti questi prodotti contengono, in qualche misura, lipidi con numeri di carbonio più corti. Una spiegazione più plausibile sarebbe che la marcata occlusione provocata dal petrolato, induce la macerazione e la destabilizzazione della struttura dello strato corneo e di conseguenza lo rende più soggetto alla penetrazione dei lipidi.

In conclusione:

1. L'olio di paraffina e gli oli vegetali penetrano solo negli strati più esterni dello strato corneo. Non esiste differenza fra questi oli.
2. L'olio di paraffina e gli oli vegetali hanno lo stesso potenziale occlusivo, che è significativamente inferiore a quello del petrolato.
3. La cute degli adulti si comporta in modo analogo a quella dei neonati in seguito ad applicazione topica di oli.
4. La microspettroscopia Raman confocale è un nuovo strumento affidabile e non invasivo per la determinazione quantitativa e locale in vivo della penetrazione delle sostanze in seguito ad applicazione topica. Inoltre, è sufficientemente sensibile da misurare l'occlusione cutanea in seguito ad applicazione topica di oli.

Bibliografia

- [1] Overgaard Olsen L, Jemec GB. The influence of water, glycerin, paraffin oil and ethanol on skin mechanics. *Acta Derm Venereol* 1993;73:404—6.
- [2] Blanken R, van Vliesteren MJ, Tupker RA, Coenraads PJ. Effect of mineral oil and LinoLeic-acid-containing emulsions on the skin vapour loss of sodium-Lauryl-sulphate-induced irritant skin reactions. *Contact Dermat* 1989;20:93—7.
- [3] Zesch A, Bauer E. Quantitative Aspekte zur perkutanen Aufnahme von Wollwachsalkoholen (Cetylalkohol) und Paraffinen (Octadecan) aus verschiedenen Salbengrundlagen. *Dermatosen Beruf Umwelts* 1985;33:15—20.
- [4] Agero AL, VeraLo-Rowell VM. A randomized double-blind controlled trial comparing extra virgin coconut oil with mineral oil as a moisturizer for mild to moderate xerosis. *Dermatitis* 2004;15:109—16.
- [5] Darmstadt GL, Mao-Qiang M, Chi E, Saha SK, Ziboh VA, Black RE, et al. Impact of topical oils on the skin barrier: possible implications for neonatal health in developing countries. *Acta Paediatr* 2002;91:546—54.
- [6] Wiechers J, Barlow T. Skin moisturization and elasticity originate from at least two different mechanisms. *Int J Cosmet Sci* 1999;21:425—35.
- [7] Zhai X, Yokota M, Maibach HI. In vitro human skin model to evaluate water permeability and determine wound dressings' occlusivity. *Cutan Ocul Toxicol* 2007;26:107—II.
- [8] Ansmann A, Gondeck H, Kawa R, Köster J. Cetiol PGL, eine sensorische Alternative zu Paraffinöl. In: ZioLkowsky B, editor. *Kosmetikjahrbuch*. Augsburg, Germany: Verlag für chemische Industrie; 1996. p. 180—4.
- [9] Stender IM, Blüchmann C, Serup J. Effects of oil and water baths on the hydration state of the epidermis. *Clin Exp Dermatol* 1990;15:206—9.
- [10] Caspers PJ, Lucassen GW, Bruining HA, Puppels GJ. Automated depth-scanning confocal Raman microspectrometer for rapid in vivo determination of water concentration profiles in human skin. *J Raman Spectrosc* 2000;31:813—8.
- [11] Caspers PJ, Lucassen GW, Wolthuis R, Bruining HA, Puppels GJ. In vitro and in vivo Raman spectroscopy of human skin. *Biospectroscopy* 1998;4:S31—9.
- [12] Pruns JK, Rapp C, Hintze U, Wittern K-P, König WA. Characterization of paraffin oils and petrolatum using LDI-TOF MS and principle component analysis. *Eur J Lipid Sci Technol* 2003;105:275—80.
- [13] Caspers PJ, Lucassen GW, Carter EA, Bruining HA, Puppels GJ. In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: non-invasive determination of molecular concentration profiles. *J Invest Dermatol* 2001;116:434—42.
- [14] van der Pol A, Riggs WMR, Caspers PJ. In vivo Raman confocal microspectroscopy of skin. In: Šašić S, editor. *Pharmaceutical applications of Raman spectroscopy*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.; 2008. p. 191—219.
- [15] Norlén L, Emilson A, Forslind B. Stratum corneum swelling. Biophysical and computer assisted quantitative assessments. *Arch Dermatol Res* 1997;289:506—13.
- [16] Egawa M, Hirao T, Takahashi M. In vivo estimation of stratum corneum thickness from water concentration profiles obtained with Raman spectroscopy. *Acta Derm Venereol* 2007;87:4—8.
- [17] Sieg A, Crowther J, Blenkiron P, Marcott C, Matts PJ. Confocal Raman microspectroscopy: measuring the effects of topical moisturizers on stratum corneum water gradient in vivo. In: Mahadevan-Jansen A, Petrich WH, editors. *Biomedical vibrational spectroscopy III: advances in research and industry (Proc SPIE 6093)*. Bellingham, WA: SPIE-The International Society for Optical Engineering; 2006. p. 60930N.
- [18] Brown AC, Koett J, Johnson DW, Semaskovich NM, Holck P, LaLly D, et al. Effectiveness of kukui nut oil as a topical treatment for psoriasis. *Int J Dermatol* 2005;44:684—7.
- [19] Ghadially R, Halckier-Sorensen L, Elias PM. Effects of petrolatum on stratum corneum structure and function. *J Am Acad Dermatol* 1992;26:387—96.
- [20] Lampe MA, Burlingame AL, Whitney J, Williams ML, Brown BE, Roitman E, et al. Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *J Lipid Res* 1983;24:120—30.

Disponibile online su www.sciencedirect.com



ScienceDirect