



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

Nuevas tendencias en Dermofarmacia: El fotoprotector ideal. Análisis del sistema DSNPs

Autor: Teresa Lastres Vargas

Fecha: Julio 2020

Tutor: María de la Paloma Ballesteros Papantonakis

RESUMEN

El estudio presenta los problemas existentes en el mundo de la fotoprotección, identificados por los expertos. Estos ofrecen recomendaciones, definiendo las tendencias y requisitos esenciales que debe cumplir el protector solar idóneo. Asimismo, se analiza una nueva formulación como propuesta novedosa (DSNPs), que parece ajustarse a las demandas del panorama actual y futuro de la fotoprotección.

I. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Los efectos nocivos de la luz solar para la piel hacen necesario el uso de la fotoprotección, y la búsqueda de medios cosméticos cada vez más adaptados a las necesidades del usuario y a las nuevas tecnologías.

Los objetivos del trabajo son, en primer lugar, investigar las nuevas tendencias en fotoprotección y las propuestas existentes para mejorar las limitaciones que tiene actualmente. Y, por otra parte, analizar un nuevo modelo de formulación fotoprotectora para comprobar su adecuación a los criterios hoy en día considerados imprescindibles para el protector solar ideal.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica en bases de datos como Sciencedirect y Pubmed, utilizando las siguientes palabras clave: “cosmetics”, “dermopharmacy” “new tendencias” “photoprotection” “nano-sunscreen”. El trabajo se ha centrado especialmente en la revisión del estado de la cuestión de Krutman *et al.* y en el artículo de Bin Yu *et al.* sobre su nueva formulación. A partir de estos estudios se realizó una búsqueda bibliográfica ascendente.

III. INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO

3.1. Conceptualización de la radiación ultravioleta

La piel constituye la primera barrera defensiva del organismo frente a los numerosos factores de estrés ambiental a los que está continuamente expuesta. La luz solar es uno de ellos. La luz solar se compone de radiaciones de diferente longitud de onda. Las de mayor energía (rayos cósmicos, gamma y X) son filtradas por la atmósfera. También se filtra parte de la radiación ultravioleta (UV): los rayos ultravioleta C (UVC) (100-280 nm). Los rayos ultravioleta A y B (en adelante UVA y UVB, respectivamente) no son filtrados y por tanto tienen un impacto sobre la piel. Los UVA constituyen el 90-95% de los UV no filtrados, y los UVB suponen el 5-10% restante. La profundidad a la que estos dos tipos de radiación penetran en la piel depende de su longitud de onda, con lo que los UVA que son de mayor longitud (315-400 nm) llegan incluso hasta la dermis. Los UVB (280-315 nm) apenas alcanzan esta capa porque se absorben casi por completo en la epidermis, aunque su intensidad es suficientemente elevada como para producir efectos nocivos.

3.2. Daños producidos por la radiación UV

La radiación ultravioleta tiene un impacto sobre la piel con efectos complejos y muy diversos, tanto positivos como negativos. Entre los beneficiosos destacan el papel esencial desempeñado por los UVB en la síntesis de colesterciferol (vitamina D) y las endorfinas en la piel.

Además los UVB participan en el bronceado duradero. Por contra, los rayos UV también producen una serie de daños cutáneos tanto a corto como a largo plazo.

3.2.1. Exposición aguda

La exposición aguda (a corto plazo) produce la quemadura por la acción de los UVB: Esta radiación induce una cascada de citoquinas vasoactivas y mediadores que generan una respuesta inflamatoria.¹ Se produce así la dilatación de los vasos sanguíneos superficiales de la piel, el eritema o quemadura. Esta puede agravarse hasta un estado edematoso con dolor y ampollas si el nivel de exposición es extremo. Si la dosis UV supera un umbral de respuesta a los daños, los queratinocitos activan vías apoptóticas y mueren.

3.2.2. Exposición continuada o crónica

La exposición continuada o crónica (a largo plazo) produce daños en la piel por dos mecanismos, directo e indirecto. Uno directo, en el que la energía UV es absorbida por las biomoléculas de las células cutáneas (lípidos, proteínas, ácidos nucleicos) lo que genera en ellas fotolesiones. Y un mecanismo indirecto: los UV inducen un aumento de la producción de especies reactivas de nitrógeno (RNS) y de oxígeno (ROS). Los radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), aniones superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), los oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) o peróxido de hidrógeno (H_2O_2) son algunas de estas ROS. Los UV activan la NADPH oxidasa y la cadena de transporte de electrones, y estimulan la producción de aniones superóxido. También generan radicales libres a través de reacciones de fotosensibilización con cromóforos internos como riboflavinas y porfirinas.² Un exceso de ROS puede inactivar el factor de transcripción Nrf2, reduce el sistema de defensa antioxidante, agrava los desórdenes cutáneos y produce un aumento potencial del riesgo de fotocarcinogénesis. Todo ello conduce a un estado de estrés oxidativo, una activación de la respuesta inflamatoria y acumulación de daños en el DNA y otras macromoléculas. Situación que produce una oxidación y lesión de las células, con la consiguiente alteración de su funcionalidad.³ Otra forma de clasificar estos efectos nocivos UV es atendiendo no tanto a su mecanismo de acción sino a sus consecuencias. Así, la exposición crónica a la radiación UV se ha relacionado principalmente con fenómenos de fotocarcinogénesis, fotoenvejecimiento e inmunosupresión.

3.2.2.1. Fotocarcinogénesis

La radiación UV se considera un carcinógeno completo, por su doble acción iniciadora y promotora de la carcinogénesis. Aunque UVA es en general mucho menos carcinogénica que UVB, es más abundante en el espectro UV. Por tanto contribuye significativamente en este proceso. Las diferencias entre A y B marcan que tengan mecanismos diferentes para contribuir en la fotocarcinogénesis.⁴ UVB tiene una acción predominantemente directa. Esta radiación es iniciadora del proceso carcinogénico al ser genotóxica, dado que las macromoléculas que absorben los UVB sufren una reorganización molecular. La UVB es capaz de llegar al núcleo de las células epidérmicas y dañar el DNA. Se forman mayoritariamente dímeros mutagénicos de ciclobutano pirimidinas (CPDs) como dímeros de timina, y fotoproductos 6-4.⁵ Por su parte, la radiación UVA participa mayoritariamente por otra vía. Es promotora de la carcinogénesis. A diferencia de la UVB, la UVA apenas se absorbe por el DNA, lo que hace más relevante la absorción por otras moléculas (fotosensibilizadores endógenos como porfirinas y riboflavinas) y la consecuente formación de radicales libres. Estos, y más en concreto las ROS son las que

dañan el DNA, las membranas y otros componentes celulares. La mayoría de los daños en el DNA, como los CPDs, son reparados por el sistema de Escisión de Nucleótidos (NER)⁶, pero si no se reparan existe una elevada probabilidad de mutaciones cancerígenas.⁷ Las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) también juegan un papel crucial en la fotocarcinogénesis, dado que participan y regulan varias vías necesarias para el crecimiento del tumor como su institución, angiogénesis y metástasis.⁸ Así, la exposición a la radiación UV se considera un factor etiológico significativo de casi todas las formas de cáncer de piel, que acaba desarrollándose a consecuencia de la acumulación de cambios genéticos (junto a la inmunomodulación mediada por los UV).⁹ Aumenta el riesgo de desarrollar carcinomas epidermoides, carcinomas de células basales y melanomas.

3.2.2.2. Fotoenvejecimiento

Los cambios de la piel debidos a la edad pueden clasificarse en dos tipos: El envejecimiento intrínseco o cronológico, que es el proceso degenerativo inherente por el declive de las funciones y capacidades fisiológicas y el envejecimiento extrínseco, causado por factores ambientales que, en este caso, al ser la luz solar se denomina fotoenvejecimiento.¹⁰ Este fenómeno es un envejecimiento prematuro de la piel que conlleva cambios irreversibles. Se caracteriza por generar una piel seca, flácida y con surcos gruesos y profundos,¹¹ muy diferente de la piel por envejecimiento intrínseco: clara, suave y con arrugas finas. La radiación UV aumenta la expresión de MMPs,¹² que participan en el envejecimiento intrínseco de la piel mediado por estrés oxidativo. Son responsables de la degradación de proteínas de la matriz como el colágeno, la elastina, fibronectina y proteoglicanos, que conduce a la pérdida de elasticidad de la piel y consecuente aparición de arrugas.¹³ La acumulación de fragmentos de colágeno con la exposición UV crónica deteriora las funciones y las propiedades mecánicas de la matriz extracelular de la piel. Los fibroblastos que se “sostienen” en la matriz degradada responden ante este microambiente que se ha generado con una sobreexpresión de MMPs y una disminución en la producción de colágeno. Así, se genera un fenotipo auto sostenible, un círculo vicioso que promueve la fragilidad y los desórdenes de la piel relacionados con la edad.⁵

Otra característica del fotoenvejecimiento son los desórdenes pigmentarios. La melanina es un conjunto de pigmentos fotoprotectores, cuya síntesis se ve aumentada por la radiación UV en lo que se denomina bronceado. En la epidermis joven los melanocitos se distribuyen con una densidad relativamente homogénea ($\sim 1500/\text{mm}^2$) por todo el cuerpo. Pero cada década que pasa se produce una disminución del 10-20% en la producción de melanina,¹⁴ no se sabe si es debido a una pérdida de melanocitos o de su actividad. Es decir, la piel envejecida conlleva de por sí cambios pigmentarios. Si además hay exposición crónica a la luz solar, con la edad la pigmentación se vuelve desigual, y aparece la piel moteada como rasgo distintivo.¹⁵ Las lesiones pigmentadas más comunes en la piel fotoenvejecida incluyen el lentigo actínico solar o senil, efélides o “pecas” y queratosis pigmentadas solares y seborreicas. El aumento de la pigmentación local, también típica, se debe al mayor número de melanocitos “dopa-positivos” en la membrana basal epidérmica.

3.2.2.3. Inmunosupresión

La piel constituye la primera línea defensiva. Es una barrera física que cuenta con un potente sistema inmunitario intrínseco como protección frente a las infecciones.¹⁶ La exposición a los UV puede conducir a una supresión de la inmunidad cutánea, y parece ser que

la radiación de longitud de onda más corta (UVB) tiene una mayor implicación en este fenómeno. Se inicia con la absorción UV por fotorreceptores cromóforos (el DNA, el ácido trans-urocánico) a través del mecanismo indirecto explicado anteriormente. La liberación de una gran variedad de mediadores daña a las células presentadoras de antígeno que circulan por la piel: macrófagos, linfocitos B, células dendríticas y células de Langerhans, predominantes en la epidermis. Además, induce la liberación de citoquinas inmunosupresoras y causa la apoptosis de los leucocitos. El daño en el DNA inducido por UVB es un importante desencadenante molecular de la inmunosupresión, ambos están directamente relacionados. De modo que una reducción del primero mitiga los efectos inmunosupresores. La inmunosupresión inducida por UV no es generalizada sino que se centra en las reacciones inmunológicas antígeno-específicas. La aplicación de alérgenos de contacto sobre la piel expuesta a los UV no causa sensibilización sino que induce tolerancia. La inmunosupresión antígeno-específica está mediada por linfocitos T supresores antígeno-específicos, responsables de regular la respuesta inmune. Se generan en las fases finales del proceso, y parece que un requisito esencial para su desarrollo es la presentación del antígeno en los nódulos linfáticos por las células de Langerhans dañadas. La inhibición de la respuesta inmune en la piel acarrea una serie de consecuencias en el control de la aparición de cáncer, de las enfermedades infecciosas, y en las enfermedades autoinmunes.^{17, 18}

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fotoprotección

El objetivo de la fotoprotección es fundamentalmente evitar los efectos negativos de la luz solar sin interferir con sus efectos beneficiosos. Existen a su vez dos tipos.

4.1.1. Fotoprotección intrínseca

Es el mecanismo de defensa de la piel ante la exposición a la radiación UV: las melaninas que son un conjunto de pigmentos producidos por los melanocitos, localizados en la capa basal de la epidermis y en la matriz del folículo piloso. Producen unos gránulos (melanosomas) que cuando están llenos de pigmento se transfieren a los queratinocitos vecinos. Estas células migran hacia la superficie transportando el pigmento en su interior y así la piel adquiere su color. Existen dos tipos de melaninas, que forman combinaciones complejas programadas genéticamente en cada individuo (tipo, cantidad y calidad de melaninas) que dan lugar a los numerosos tonos de piel: las eumelaninas, de color pardo o negro, se expresan en las coloraciones oscuras y contienen azufre, pero en menor proporción que las feomelaninas. Estas últimas son de color amarillo o rojo-pardusco y constituyen los tonos de piel clara. Además de dar color, las melaninas constituyen el protector natural de la piel contra el sol. Dentro de la llamada "barrera melánica", es la eumelanina la que asegura una mejor protección frente a la feomelanina, por su mayor capacidad de absorción de los rayos UV. Además capta los radicales libres e impide que penetren a mayor profundidad, con lo que de las dos maneras protege el DNA celular. Los individuos de piel oscura cuentan con niveles más altos de eumelanina, lo que les confiere una menor permeabilidad a la radiación UV. El bronceado es una pigmentación adaptativa, el mecanismo de autodefensa ante la agresión solar y, cuanto más y mejor pigmentada esté la piel, mayor es su protección contra los efectos negativos expuestos como el fotoenvejecimiento y el cáncer.¹⁹

4.1.2. Fotoprotección extrínseca

Por otro lado existe la fotoprotección extrínseca o artificial, en la que se centra este trabajo. Los protectores solares incluyen en su composición filtros solares, en su mayoría UV. Los filtros UV son los componentes que realizan la acción protectora a través de diferentes mecanismos: absorción, reflexión o dispersión de los rayos. Existen varios tipos de filtros, con sus ventajas e inconvenientes. Normalmente la combinación de filtros químicos UVA/UVB y antioxidantes da lugar a preparados de amplio espectro de protección solar y elevada eficacia.

4.1.2.1. Tipos de protectores ultravioleta

➤ Filtros químicos u orgánicos

Estos filtros son moléculas orgánicas con grupos cromóforos en la región UV, de estructura electrónica resonante.³⁰ Absorben la radiación UV (como la melanina) y la transforman en calor. En función de la longitud de onda que absorben se clasifican en filtros UVA, UVB y de amplio espectro. Algunos son el octinoxato (UVB), los salicilatos (UVB) y las benzofenonas (UVA). Su ventaja es que no plantean problemas en su formulación. Se consiguen protectores estéticos y por tanto aceptados en general, pero tienen un perfil de seguridad problemático, tanto a nivel humano como medioambiental.²⁰

➤ Protectores físicos, inorgánicos o minerales

También denominados “pantalla”, no son filtros como tal. Actúan por reflexión y dispersión de la luz UV, como el dióxido de titanio (en adelante TiO_2) y el óxido de cinc (en adelante ZnO). Además de la radiación UV retienen la zona de la luz visible (VL) e infrarrojo (IR), con lo que son protectores de amplio espectro. Además como ventaja tienen una gran fotoestabilidad y un potencial mínimo de provocar reacciones de hipersensibilidad. Sus desventajas derivan de su mecanismo de acción, por un lado a nivel cosmético: al ser reflectores producen un excesivo brillo y color blanquecino que empeoran las propiedades cosméticas y son por ello menos aceptados.²¹ Y por otro lado, a nivel de seguridad dado que parecen inducir la liberación de ROS con las consabidas consecuencias.²²

➤ Filtros biológicos

Cada vez más empleados, no son filtros como tal, son coadyuvantes antioxidantes que evitan la formación de radicales libres. De esta manera ayudan a combatir el estrés oxidativo y la inflamación, y así potencian el subsistema inmunológico cutáneo. Los más utilizados son las vitaminas A (betacarotenos), C y E en forma de acetato o palmitato. Ambas han demostrado en estudios recientes propiedades antirradicales por vía tópica y actúan contra el fotoenvejecimiento cutáneo y los procesos fotocarcinogénicos.³⁰

4.1.2.2. El uso necesario de la fotoprotección

Se sabe que el uso regular de protección solar protege frente a los efectos negativos de la luz UV ya citados: fotoenvejecimiento, inmunosupresión y fotocarcinogénesis, sobre todo protege frente al carcinoma de células escamosas y los melanomas.²³ Según los expertos, cuatro de cada cinco casos de cáncer de piel se podrían prevenir, ya que la exposición UV es el factor de riesgo de cáncer de piel modificable más importante, gran parte del daño UV es evitable.^{24,25} Los efectos negativos derivados de la exposición crónica a los UV se han conocido en más profundidad con los avances científicos de las últimas décadas. Asimismo, ha habido un aumento

de la incidencia de cáncer de piel, lo que para una población envejecida a nivel global supone un problema grave de salud pública. Este aumento está estrechamente relacionado con una sobreexposición recreacional al sol, popular sobre todo en poblaciones de piel clara que son especialmente susceptibles. La OMS ha alertado sobre los riesgos de esta práctica, que incluye la exposición a la luz UV artificial.²⁶ Dada la inclinación generalizada por las actividades al aire libre, la necesidad y el papel de la fotoprotección resultan evidentes.

Estas dos realidades han llevado a la noción de necesidad de la protección solar, -incluso del uso regular o diario-, y a que se esté fomentando en la población mediante numerosas campañas de salud pública. El uso de estos productos ha aumentado significativamente en los últimos años, así como su aceptación. El consumidor está cada vez más concienciado sobre el fotoenvejecimiento y el impacto que este puede tener sobre su piel y su calidad de vida, aunque no tanto sobre la fotocarcinogénesis.^{27,28} A su vez, existen dudas acerca de la seguridad de los filtros, lo que genera controversia en el uso de fotoprotección. En este contexto la fotoprotección se convierte en un tema de plena actualidad en constante evolución (a la par que los avances científicos) y hoy su situación plantea una serie de retos.

4.2. Limitaciones y recomendaciones para la mejora de la fotoprotección actual

Krutmann et al. retratan el estado de situación actual del mundo de la fotoprotección. Destacan en una revisión sus principales problemas y limitaciones, y los plantea como base de los “retos y oportunidades” del futuro. A la vista de ese escenario, este trabajo se centra en tres aspectos principales no resueltos y sus soluciones, que el fotoprotector ideal debería ofrecer: ser eficaz, seguro y agradable de usar, ante los problemas existentes en cuanto a eficacia, seguridad y cosmeticidad, respectivamente.²⁷

4.2.1. Limitaciones en la eficacia

4.2.1.1. Protección incompleta y desequilibrio UVA/UVB

Del conjunto del espectro solar, es la radiación UV la que supone una mayor amenaza para la piel. Por ello, la fotoprotección se ha centrado en evitar sus efectos, y en concreto los agudos: el eritema o “quemadura”, producido por los UVB. De hecho, el único método de caracterización de la protección de una fórmula es el Factor de Protección Solar (SPF) que además cuenta con una serie de limitaciones, como el hecho de no estar estandarizado. Este método consiste en medir la dosis UV mínima que produce eritema (MED). El SPF solo mide la protección UVB. Existen formulaciones que incorporan fundamentalmente filtros UVB y con un SPF elevado, y sin embargo tienen baja protección UVA (UVA-PF o Factor de Protección UVA), desprotegiendo la piel frente a UVA. El usuario se considera erróneamente más protegido y se expone en mayor medida a la radiación no UVB (UVA, VL e IR). La protección frente a UVA resulta primordial por sus acciones ya descritas sobre la piel. Actualmente muchos protectores de amplio espectro incluyen filtros de este tipo, pero no cubren todas las longitudes de onda, como los rayos de onda larga (UVA1: 340-400 nm). Además, existen limitaciones en la nomenclatura del etiquetado: la falta de uniformidad por un lado y el hecho de que la indicación de UVA-PF con valores numéricos es inexistente. Actualmente los criterios más adecuados en este sentido son los europeos y sudamericanos.

4.2.1.2. Problemas provocados por otras radiaciones

Hoy en día se sabe que la luz visible (VL) y los rayos infrarrojos (IR) también tienen un impacto biológico sobre la piel, y es exigible que se incluya una protección adecuada frente a ellos. La luz visible parece que contribuye en la patogénesis de desórdenes pigmentarios como el melasma (una hipermelanosis) y la hiperpigmentación postinflamatoria, y produce hiperpigmentación persistente en individuos de piel oscura (tipos III-VI). Los melanocitos detectan la luz azul-violeta de alta energía (HEVL) y regulan la pigmentación a través de la opsina-3. Por su parte los efectos de los infrarrojos están mediados por estrés oxidativo y/o calor, con una sobreexpresión en la dermis de MMP-1, que degrada el colágeno con la consiguiente aparición de arrugas. Para prevenir estos efectos IR se ha demostrado en estudios en humanos que los protectores que contienen antioxidantes son efectivos.²⁹

Por todo esto según los expertos es necesario por un lado que el método de determinación del SPF sea estandarizado, y la inclusión de otros métodos complementarios que miden factores de protección frente a los UVA como el PPD y el IPF: El Factor de Oscurecimiento Pigmentario Persistente, (PPD), que mide la dosis UV mínima que produce pigmentación (MPD)³⁰, y el Factor de Protección Inmunitaria (IPF), que mide la capacidad del protector de prevenir la inmunosupresión inducida por la luz UV. Por otro lado un protector moderno debe considerar la totalidad del espectro solar. Debe ofrecer protección de amplio espectro, que cubra tanto los rayos UV (además de manera equilibrada entre UVB y UVA, incluyendo la radiación de onda larga UVA1), como los IR y VL; Además el uso del protector solar se debe entender como parte de la estrategia global de fotoprotección, que incluye evitar la exposición en horas de insolación máxima, y medidas físicas como cobijarse a la sombra y cubrirse con sombreros y ropa.

4.2.2. Limitaciones en la Seguridad

Dado que se conoce su papel en la prevención del cáncer y demás fenómenos nocivos de la luz UV, el uso de la protección solar ha aumentado. Además se recomienda un uso casi a diario por sus beneficios. Existe por tanto una creciente exposición a los protectores que conlleva una creciente preocupación por la toxicidad potencial de estos productos para la piel y los ecosistemas, debido a su presencia en el medio ambiente. Preocupa en concreto la seguridad de los filtros ultravioleta, principal activo de los fotoprotectores.³¹

4.2.2.1. Toxicidad humana por la exposición a filtros UV químicos

Los filtros UV químicos deben sus características de persistencia, estabilidad y lipofilia a su estructura molecular. A ella deben su penetración cutánea y su bioacumulación en los organismos. Estas propiedades hacen que los filtros químicos puedan ser tóxicos para el hombre tanto por la exposición directa como medioambiental y los convierten en contaminantes de preocupación emergente.^{32,33} Además de los problemas de sensibilidad y alergias de contacto que producen en la piel, estos componentes tienen la limitación de su penetración y acceso a circulación sistémica. La agencia estadounidense FDA ("US Food and Drug Administration") establece un límite máximo de la concentración plasmática que pueden alcanzar los componentes de un protector solar con absorción sistémica. En concentraciones de >0,5 ng/mL deben someterse a una evaluación toxicológica no clínica con ensayos de carcinogenicidad, de toxicidad reproductiva y en el desarrollo. En numerosos ensayos recientes se detectaron concentraciones plasmáticas de filtros químicos muy superiores al límite establecido por la FDA.^{34,35} La absorción y distribución significativas de estos ingredientes plantea posibles problemas de toxicidad sistémica tras su uso continuado. Como consecuencia de la exposición

directa y la ambiental, se ha visto que los filtros químicos inducen toxicidad aguda, toxicidad en el desarrollo y toxicidad reproductiva.^{36,37} Muchos de estos filtros han sido identificados como potenciales disruptores endocrinos en estudios *in vitro* e *in vivo* en diferentes organismos.³⁸ Es el caso de filtros del tipo benzofenona, derivados canforados y de cinamatos, como Benzofenona y octil-metoxicinamato entre otros. Los filtros UV químicos en general son disruptores del sistema hipotalámico-pituitario-gonadal. También ejercen este efecto sobre los receptores de la hormona tiroidea (TR) y de progesterona (PR), y tienen acción androgénica y estrogénica.³⁹ Sin embargo, con la excepción de algunas benzofenonas, estos compuestos no aparecen reconocidos como potenciales disruptores endocrinos medioambientales en la lista de la Comisión Europea, que elabora un informe sobre este tipo de sustancias.⁴⁰

4.2.2.2. Toxicidad humana por la exposición a protectores UV físicos

Para evitar sus problemas cosméticos las partículas micrométricas de TiO₂ y ZnO cada vez se sustituyen más por las nanopartículas (en adelante NPs) (1-100 nm).⁴¹ Según los abundantes datos disponibles a día de hoy, el riesgo para el hombre por el uso de NPs de TiO₂ y ZnO en cosméticos y fotoprotectores se considera despreciable. Estos “nanofiltros” UV, independientemente de si son o no recubiertos o de su estructura cristalina pueden ser considerados como seguros para su uso en formulaciones protectoras en concentraciones hasta del 25% para proteger la piel de los efectos nocivos de la luz UV. A pesar de que la conclusión más directa y lógica de los estudios de referencia y actualmente de más de 20 años de historia de uso humano es que las NPs de TiO₂ y ZnO son seguras, actualmente han despertado una creciente preocupación, que es doble:

➤ Penetración y acceso a circulación sistémica

Debido a su pequeño tamaño pueden surgir dudas acerca de si las NPs atraviesan la epidermis y se distribuyen, causando toxicidad con el uso continuado.

➤ Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)

Se trata de un problema inherente al mecanismo de acción de los protectores físicos. Ante la exposición a los rayos UV, TiO₂ y ZnO sufren procesos fotocatalíticos y fotodegradativos. En ellos se originan ROS fotoactivadas que como se ha explicado anteriormente, son citotóxicas y carcinogénicas. La estructura cristalina de TiO₂ tipo anatasa es la que tiene los mayores efectos fotocatalíticos. Si bien algunos estudios plantean una preocupación por el potencial fotocarcinogénico de las NPs, y sugieren su posible penetración transdérmica, la mayoría de ellos usaron modelos animales.⁴² Estos dos problemas (penetración y formación de ROS) tratan de evitarse con el recubrimiento de las NPs, siendo las capas de sílice las más efectivas.⁴³ Los fabricantes han desarrollado métodos de recubrimiento para evitar la formación de ROS y reducir el potencial citotóxico al evitar el contacto de las NPs con las células humanas. Las NPs de TiO₂ y ZnO son agregados de partículas de 30 a 150 nm. Se formulan de tal manera que su aplicación sobre la piel no produce su desnaturalización y liberación de los componentes primarios como los óxidos. Numerosos estudios experimentales *in vivo* e *in vitro*, en piel humana y animal han demostrado que incluso bajo circunstancias extremas ninguno de los dos tipos de NPs penetra en la piel más allá del estrato córneo.⁴⁴ Quedan retenidas en la capa no viable de células queratinizadas de este estrato incluso en piel dañada. Así, con la renovación periódica del estrato córneo, no hay riesgo de acumulación de NPs.⁴⁵ Es más, la distribución y persistencia

de estas NPs de estos óxidos metálicos es la misma en comparación con partículas de mayor calibre (por ejemplo <100nm), con un reconocimiento y eliminación por parte del organismo equivalentes. Finalmente, los perfiles genotóxicos y fotogenotóxicos *in vitro* e *in vivo* a corto plazo de estas NPs no tienen efectos sobre la salud humana. Por todo ello, pese a que aparentemente pueda haber contradicciones, el peso de la evidencia afirma que los beneficios que los fotoprotectores de NPs de TiO₂ y ZnO tienen en la salud pública compensan con creces las posibles preocupaciones sobre su seguridad.⁴⁶

4.2.2.3. Toxicidad medioambiental

Al aplicar un fotoprotector sobre la piel, se va desprendiendo poco a poco en actividades como el baño o el lavado, y pasan al medio acuático. Su bioacumulación y persistencia se deben a que son poco biodegradables. Por ello se han detectado residuos de filtros UV en diversas matrices medioambientales, incluyendo plantas de tratamiento de aguas y lodos residuales, aguas superficiales, sedimentos de ríos y piscinas. También se han encontrado en organismos como los peces y la leche y placenta humanas.⁴⁷ El hecho de que aparezcan en otros organismos, además de ser perjudicial para estas especies, repercute en el hombre dado que los filtros químicos entran en la cadena trófica. A pesar de que actualmente la información científicamente contrastada sobre el impacto medioambiental de los filtros UV es escasa, ha aumentado la concienciación pública en este sentido, y sobre todo en lo que se refiere a los efectos sobre los arrecifes de coral.⁴⁸

Numerosos expertos sugieren revisar la situación actual de los fotoprotectores en cuanto a regulación y seguridad. Son partidarios de reconsiderar el balance beneficio/riesgo del uso continuado de filtros UV desde el punto de vista médico y ecológico.⁴⁹ En cuanto a los **filtros UV químicos**, Krutman *et al.*²⁷ y Matta *et al.*³⁴ sostienen que estos hallazgos acerca de los mismos no indican que haya que abstenerse de su uso. Más bien respaldan la necesidad de un mayor número de estudios para determinar su relevancia clínica.⁴³ Es necesaria una investigación más exhaustiva de su toxicocinética. En particular de su penetración cutánea y toxicidad sistémica, como su efecto disruptor endocrino, que de momento solo se ha demostrado *in vitro* y en modelos animales.

En cuanto a los **protectores físicos** habría que investigar sobre los efectos del uso a largo plazo. Hace falta profundizar sobre su uso en pieles lesionadas. El Comité Científico de los Riesgos Sanitarios Emergentes y Recientemente Identificados de la UE (CCRSERI) establece que los protectores con NPs no suponen una amenaza para la salud humana, pero a falta de suficiente evidencia que lo respalde desaconseja su uso en piel dañada.⁵³ Hay que tener en cuenta que el mayor ensayo clínico realizado sobre el efecto de la protección en la reducción del riesgo de cáncer utilizó filtros químicos, y no protectores físicos nanoparticulares.³¹ Debería realizarse otro ensayo aleatorizado con este tipo de filtros para disponer de información comparativa.⁵⁰

Para afrontar el efecto negativo de la producción de ROS, defienden promover el desarrollo de estrategias para estabilizar las NPs y reducir su producción de efectos fotocatalíticos, además de estudiar las exposiciones crónicas a estas partículas.⁵¹ Asimismo, defienden con unanimidad la necesidad de considerar la seguridad ambiental a la hora de formular fotoprotectores. Para conseguirlo se debe favorecer en lo posible el uso de filtros UV con perfiles más ecológicos y en las cantidades mínimas necesarias. Es importante la búsqueda de ingredientes innovadores que puedan usarse conjunta/alternativamente a los filtros UV actuales. En general, parece que los protectores físicos tienen un perfil de seguridad más favorable tanto a nivel humano como medioambiental. Por último, una preocupación de los

expertos relativa a la seguridad de los filtros es la opinión del consumidor. La preocupación pública por este tema, justificada o no, debe estar basada en información real y contrastada para evitar una reducción en el uso de protectores, importantes en la prevención del cáncer de piel.²⁷

4.2.3. Limitaciones en el cumplimiento cosmético

Las limitaciones de opacidad, brillo y de la obstrucción de los poros de la piel afectan fundamentalmente a los protectores físicos. Como partículas micronizadas, tienen una serie de características desfavorables que los hacen menos atractivos y difíciles de usar.⁵⁸ Para abordar esta cuestión hay que atender a las características fisicoquímicas de TiO_2 y ZnO . El TiO_2 está presente en la naturaleza en forma de tres estructuras cristalinas: anatasa, brooquita y rutilo, la más común y estable. Estos dos últimos tienen un elevado índice de refracción (n) de 4,0 y 3,6 respectivamente. La blancura opaca de estos pigmentos se debe en parte a sus elevados índices refractivos. ZnO está presente en dos formas: blenda de zinc y wurtzita, la más común y estable. En su caso el n es de 2,3 -2,0⁵¹ por lo que su efecto blanquecino es menor que el de TiO_2 . Tanto TiO_2 y ZnO producen una absorción de luz UV y reflexión y dispersión de UV y VL. Esta dispersión de VL explica la opacidad. Debido a las diferencias en sus estructuras electrónicas, TiO_2 y ZnO son complementarios: TiO_2 absorbe fundamentalmente UVB mientras que ZnO es más eficaz con la UVA. El mecanismo prioritario de acción depende de sus tamaños de partícula. Las partículas micronizadas de TiO_2 y ZnO se han empleado en los fotoprotectores durante más de 15 años (con un tamaño de 0,1-10,0 μm), tanto recubiertas como no.²⁸ Sin embargo, las partículas nanométricas, en concreto de <100 nm, ofrecen nuevas características ópticas que resuelven la indeseada opacidad. Al ser menores que el tamaño óptimo para dispersar la luz (aproximadamente la mitad de la longitud de onda), la VL se transmite y las partículas son transparentes.⁵¹ Por otra parte, hay algunos protectores que resultan poco atractivos para el consumidor, que los encuentra “pegajosos”. Esto suele ocurrir con los filtros químicos, que se incluyen en una base oleosa. Además, esta característica es típica de los productos con un mayor SPF, lo que puede llevar a un incumplimiento del consumidor que prefiere aplicarse protectores de SPF menor pero más atractivos.⁵² El protector ideal debe cuidar sus propiedades cosméticas, dado que estas determinan en gran medida el cumplimiento de la aplicación. Esto tiene una gran importancia habida cuenta del papel de la fotoprotección en la prevención del cáncer de piel. Es recomendable que un protector sea fácil de aplicar y tenga una apariencia agradable. Esto incluye la ausencia de opacidad y tono blanquecino. Debe ser resistente al agua y al sudor, y poder retirarse fácilmente.

4.3. Presentación de una formulación novedosa y Evaluación de su adecuación a los requisitos del protector ideal

Las DSNPs o nanopartículas fotoprotectoras de acción doble son una aportación novedosa en la estrategia de fotoprotección. Es un sistema formado por núcleos con nanopartículas de protectores UV físicos TiO_2 y ZnO . Estos filtros se emplean por su mayor fotoestabilidad, menor irritabilidad de la piel y ser biológicamente inertes con respecto a los filtros químicos.⁵³

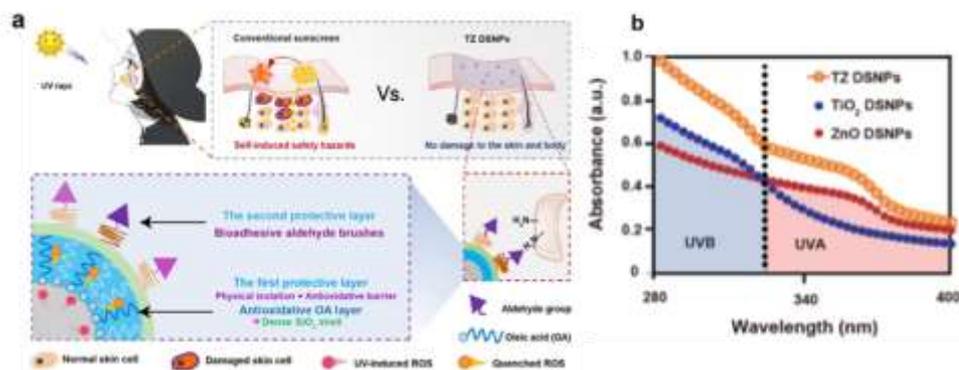


Fig 1. (a) Sistema DSNPs. (b) Espectro de absorción UV para TiO₂DSNPs, ZnO DSNPs, y TZ DSNPs.⁶¹

Tanto TiO₂ como ZnO tienen elevados coeficientes de absorción UV, que además son complementarios. Las DSNPs de TiO₂ de la región UVB (280-320 nm), y las de ZnO de UVA (320-400 nm). Así que este sistema combina ambos filtros para conseguir una protección de amplio espectro con la cobertura simultánea de UV (tanto UVA como UVB), VL e IR.

La combinación de NPs de los dos óxidos se denomina "TZ DSNPs". En el proceso de síntesis de las DSNPs primero se preparan NPs de TiO₂ y de ZnO por separado, ambas envueltas en ácido oléico (OA). Estas nanopartículas demuestran por microscopía electrónica TEM una morfología bien definida y uniformidad de tamaño medio, de 12 nm y 10 nm respectivamente. Después, se envuelven en una corteza densa de sílice SiO₂ (Fig 2 a I). Esta capa (TEOS) tiene un grosor de 7-10 nm, y se funcionaliza con un elevado número de grupos aldehído. Para ello se realiza una polimerización *in situ* de aziridina en superficie catalizada por ácido, que genera abundantes grupos amino en superficie (PEI, cadenas ramificadas de polietilenoimina) (II). Las PEI son capaces de reaccionar con un exceso de glutaraldehído por una reacción de Base de Schiff (III) y generan un enlace tipo imina. Así se produce una cobertura con aldehídos distribuidos sobre la superficie de las partículas. A su vez la capa de aldehídos consigue una unión estrecha con los grupos amino abundantes en la piel y consigue que las DSNPs tengan una gran bioadhesividad.

4.3.1. Eficacia. Protección de las DSNPs frente a la exposición UV

Aplican sobre piel de ratón la formulación de TZ DSNPs y la comercial. Los tres grupos (comercial, DSNPs y control sin protección) se exponen a dosis elevadas de luz UV. Tres días después la piel control se ha quemado considerablemente, con un eritema visible. Presenta inflamación histológica con hipertrofia epidérmica y necrosis (Fig. 2b). La tinción de los tricomas prueba el engrosamiento de la ortoqueratosis, que se suele considerar la principal causa de obstrucción de los poros y de la respuesta irritativa de la piel. En la piel protegida con la fórmula comercial aunque no hay signos de quemadura aparecen una hipertrofia significativa y descamación, lo que supone un riesgo potencial para la piel (Fig. 2c y d). En cambio, la piel protegida con TZ DSNPs no presenta daño alguno y su estado es comparable a la piel normal. En definitiva, las DSNPs ofrecen una gran eficacia, con una protección de amplio espectro frente a la totalidad del UV, considerado el más nocivo.

4.3.2. Seguridad. Acción protectora doble de las DSNPs

Normalmente, para evitar los dos principales problemas de las NPs de TiO₂ y ZnO se siguen varias estrategias. Todas ellas buscan evitar la toxicidad potencial de las ROS generadas por el propio mecanismo de acción de los protectores y la penetración de los mismos.

En cuanto a las ROS, se trata o bien de reducir directamente su producción, o bien de proporcionar un aislamiento físico para el filtro que reduzca la propagación de las ROS.⁵⁴ Una estrategia es recubrir las NPs con una capa de sílice para reducir el contacto de las ROS con la piel.⁵⁵ Sin embargo, si es demasiado gruesa puede acarrear consecuencias negativas para las características cosméticas de la fórmula. Por su elevado índice de refracción se reduce la transparencia tan deseada. Otra alternativa es introducir antioxidantes o metales pesados como V y Ce para neutralizar las ROS. Sin embargo, la adición exagerada de cualquiera de estos dos sacrifica la transparencia y la seguridad de la fórmula por su toxicidad fisiológica. Por otra parte, para evitar la penetración de las NPs se han diseñado recubrimientos bioadhesivos de polímeros. Sin embargo, estos suelen tener una estructura poco consistente y vulnerable a las ROS que la atraviesan. Como deben sobreponerse a estas dos cuestiones, a día de hoy casi todos los métodos para desarrollar fotoprotectores con NPs fallan en una u otra: o bien reducen las ROS descuidando la penetración, o viceversa. Precisamente por su diseño, las DSNPs presentan como resultado una doble capa que les confiere su acción protectora doble frente a esos dos frentes.

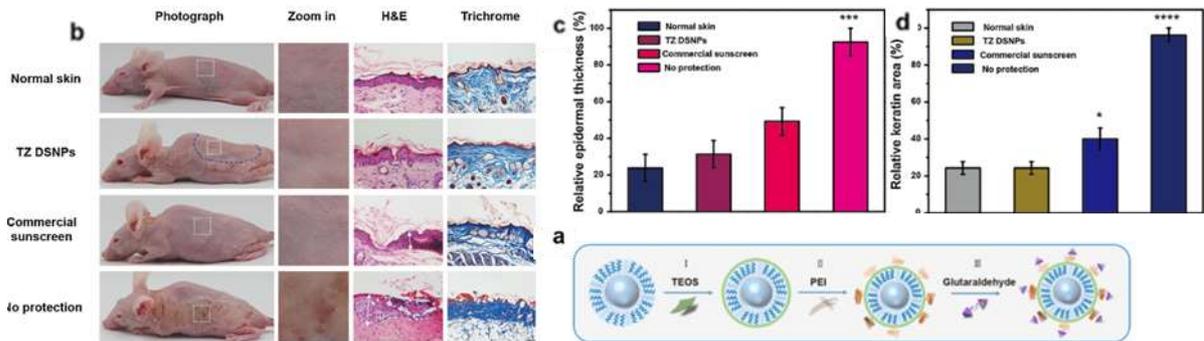


Fig 2. (a) Proceso de síntesis de las DSNPs. (b) Piel tras exposición UV. (c) Grosor epidérmico. (d) Área porcentual de queratina tras aplicaciones. Escala 100 μ m. **P < 0.01, ***P < 0.001, ****P < 0.0001 (Prueba de t-Student).⁶¹

4.3.2.1. Evitar la toxicidad potencial de las ROS generadas de manera intrínseca

La primera capa está constituida por el OA y la capa densa de SiO₂ que constituye un aislamiento físico. El ácido oléico se escoge como antioxidante por sus excelentes propiedades de transparencia y biocompatibilidad.⁵⁶ Al integrar una barrera antioxidante junto con el aislamiento físico se consigue una eficiencia ultra-alta en la eliminación de las ROS y por tanto de su toxicidad celular y cutánea. Yu *et al.* realizan una comparación de varios parámetros de las DSNPs frente a sus equivalentes comerciales (C-TiO₂ y C-ZnO), o C-TZ NPs.

➤ Evaluación de la eliminación de ROS

Los radicales hidroxilo (\cdot OH) son generalmente reconocidos como los más letales. Miden los niveles de este radical producidos por los diferentes preparados al ser irradiados con luz UVB y UVA.

Se puede observar (Fig. 3 a y b) como la eliminación de ROS tras el recubrimiento de C-TiO₂ y C-ZnO con una capa de sílice (denominadas C-TiO₂@SiO₂ y C-ZnO@SiO₂) no es suficiente. La diferencia es pequeña. En cambio, destaca la diferencia considerable con la actividad de las TiO₂ DSNPs y ZnO DSNPs, que demuestran reducir la concentración de ROS a un nivel

absolutamente seguro para el organismo. La eficiencia de neutralización es de hasta el 92,0% y 97,8% respectivamente. Estos valores son muy superiores a los aportados en estudios anteriores.^{57,58} Además, son estables dado que siguen siendo elevados (>92%) incluso con el aumento de las concentraciones tanto de TiO₂ DSNPs como de ZnO DSNPs. (Fig. 3 d y e).

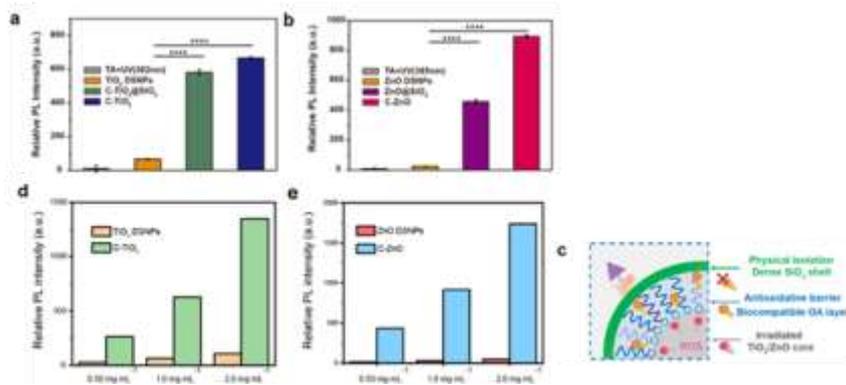


Fig 3. (a y b) Eliminación de ROS al irradiar con luz UV los diferentes preparados. (c) Mecanismo de eliminación de ROS. (d y e) Resistencia a las ROS con diferentes concentraciones.⁶¹

➤ Evaluación de la capacidad de evitar los efectos citotóxicos y daños intracelulares de las ROS

También demuestran su eficacia en evitar estos efectos de las ROS, como la necrosis celular. En la prueba de fluorescencia 2,7-DCFH-DA la señal intensa para C-TiO₂ y C-ZnO indica la liberación masiva de ROS a nivel intracelular. Frente a esta, las cantidades despreciables de ROS en las muestras con DSNPs. (Fig.4 a) Ocurre lo mismo al evaluar con la prueba JC-1 su eficacia en evitar daños por ROS en los orgánulos celulares, en concreto en evitar la apoptosis mediada por mitocondrias. Los niveles altos de ROS destruyen la membrana mitocondrial y esto eleva su potencial con la consecuente formación de poros y muerte celular (fluorescencia verde). Como se ve (Fig. 4b), C-TiO₂ y C-ZnO emiten fluorescencia verde similar a la del control. En cambio las células protegidas con TZ DSNPs emiten fluorescencia roja, que significa la ausencia de daño mitocondrial.

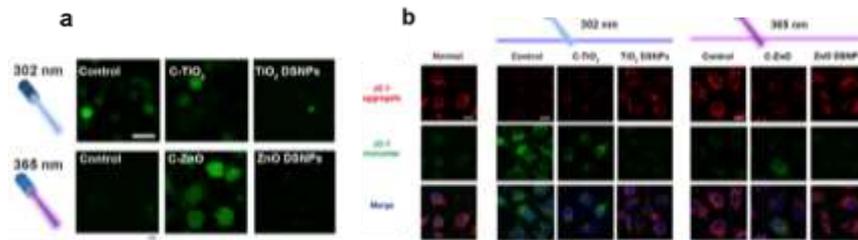


Fig 4. (a) Imágenes de fluorescencia de las ROS intracelulares detectadas por la prueba DCFH-DA. Escala, 25 μm. (b) Microscopía confocal del potencial de membrana mitocondrial (MMP) ante la exposición UVB (302 nm) y UVA (365 nm) con la prueba JC-1. Escala, 25 μm.

Por último demuestran la eficacia en evitar los efectos de ROS sobre el DNA. (Fig. 5) Las células se marcan con γ-H2AX, (un marcador de ruptura del DNA de doble cadena) para estimar el daño. En la figura 5 los resultados se mantienen respecto al ensayo anterior de ROS. Las células protegidas con C-TiO₂ y C-ZnO presentan daños graves en su DNA, (mayor número de focos fluorescentes de γ-H2AX) especialmente con C-ZnO. Esto indica que ZnO desencadena daños mayores que la exposición UV directa. En cambio, en las células protegidas con TZ DSNPs se detecta una cantidad mínima de focos.

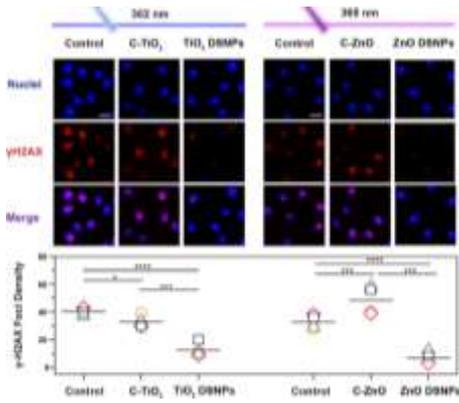


Fig 5. Evaluación del daño del DNA celular. (a) Imágenes de inmunofluorescencia bajo UVB y UVA. Tinción con DAPI y γ -H2AX para visualizar el núcleo y el daño en el DNA, respectivamente. Escala, 50 μ m. (b) Densidad correspondiente a focos de γ -H2AX para n = 100 células en cada grupo de tratamiento. *P < 0.05, ***P < 0.001, ****P < 0.0001 (Prueba t Student) NS, no significativo.⁶¹

4.3.2.2. Evitar la penetración de las DSNPs más allá del estrato córneo

La segunda capa la forman los aldehydos que se han anclado covalentemente a las DSNPs. El estrato córneo presenta una superficie muy queratinizada rica en grupos amino, que tienen una elevada afinidad por los aldehydos. Ambos grupos pueden formar diferentes enlaces, como la unión de base de Schiff. Las DSNPs aprovechan esta propiedad de manera que los aldehydos de la segunda capa funcionan como “cepillos” bioadhesivos que se unen firmemente a la piel. Esto impide la penetración de las DSNPs hacia el interior de la misma.

➤ Evaluación de la bioadherencia de las DSNPs

La evaluación *in vitro* de su bioadherencia se realiza con piel sintética (láminas de cristal modificadas con poli-L-lisina PLL para simular los grupos amino y proveer puntos para la adhesión amino-aldehído. Las TZ DSNPs tienen una adherencia dependiente de la concentración, que conlleva el aumento de los cepillos adhesivos de aldehído disponibles. (Fig. 6 a). Los resultados de las evaluaciones *in vivo* en la piel de ratones son equivalentes. (Fig. 6 b). Las TZ DSNPs quedan retenidas preferentemente frente a las C-TZ NPs. Además, Yu *et al.* evalúan la penetración de las DSNPs mediante el mapeo de una sección vertical de piel con microscopía electrónica de barrido SEM. Tras el tratamiento con C-TZ NPs detectan la presencia de Ti y Zn elementales en epidermis, dermis, folículos pilosos e incluso en tejido subcutáneo. Estas preparaciones comerciales pueden producir toxicidad sistémica potencial, mientras que las TZ DSNPs permanecen en el estrato córneo y evitan esos procesos. Demuestran así que la capa de alta densidad funcionalizada con aldehydos es una estrategia adecuada para evitar la penetración transdérmica y sus consecuencias.

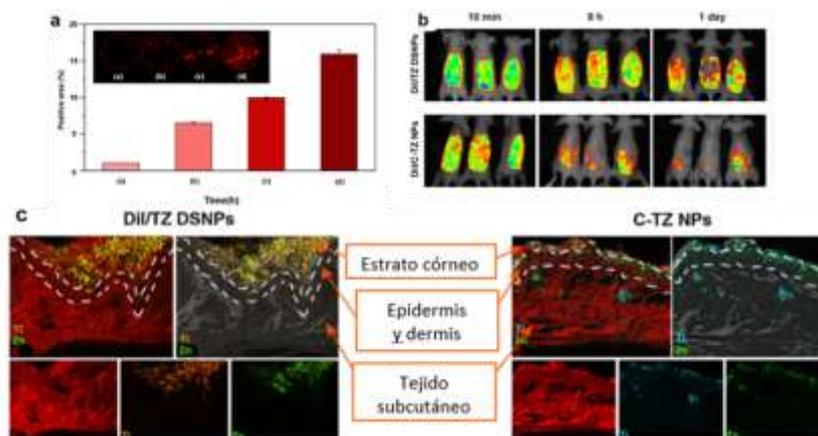


Fig 6. (a) Adherencia concentración dependiente de las TZ DSNPs. (0.2, 0.5, 0.75 y 1.0 mg mL⁻¹). Imágenes de fluorescencia de placas PLL. (b) Dil/TZ DSNPs y Dil/C-TZ NPs aplicadas sobre la piel dorsal de ratones. Sistema de imagen *in vivo* (IVIS) Retención en diferentes tiempos. (c) Mapeo de Ti y Zn por SEM en sección vertical de piel de ratón con los diferentes preparados.⁶¹

➤ Evaluación *in vivo* de la toxicidad de las TZ DSNPs

Tras la aplicación diaria de TZ DSNPs durante una semana la piel no presenta signos de irritación, toxicidad o inflamación y es indistinguible del control PBS (tampón fosfato salino). (Fig.7 a y b). Es más al evaluar la presencia de Ti y Zn elementales en plasma tras la exposición continuada no hay diferencias respecto a los ratones normales. Con lo que no hay evidencias de penetración ni toxicidad sistémica.

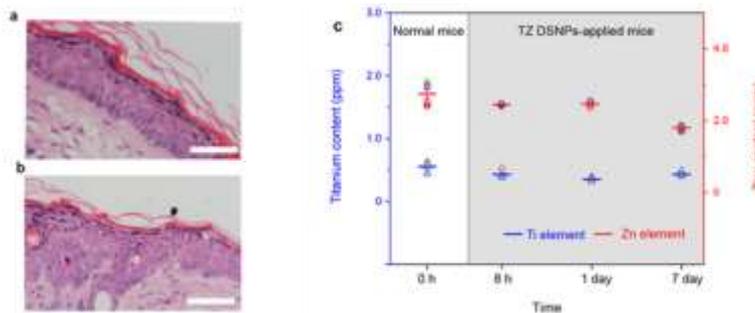


Fig 7. Secciones histológicas cutáneas de ratón. (a) PBS. (b) TZ DSNPs. Escala, 50 μ m. (c) Evaluación de la toxicidad a largo plazo de TZ DSNPs en plasma.⁶¹

Por tanto, la fórmula es segura por su excelente adherencia a la piel, ausencia de penetración y riesgo de alergias de contacto, por su capacidad de evitar la toxicidad por la producción de ROS propias, el daño celular y en el DNA.

4.3.3. Cumplimiento cosmético

Las DSNPs evitan la opacidad debida a la dispersión de la VL por parte de las partículas micronizadas. En las DSNPs la capa de SiO₂ es de 7-10 nm y aunque se recubre, la partícula resultante sigue siendo nanométrica (<20 nm). Está demostrado que la reducción del grosor de la cubierta de sílice a < 13nm supone una optimización de la transparencia, dado que la dispersión de VL disminuye hasta el 2%.⁵⁹ Las DSNPs ofrecen una transparencia óptima mayor que las C-TZ NPs y una emulsión protectora comercial (Fig. 8d). La aplicación de TZ DSNPs forma una película sobre la piel que se desprende de modo natural tras 24 horas. La formulación aprovecha el proceso metabólico natural de la piel por el que la queratina envejecida se reemplaza, y las células basales al dividirse empujan hacia la superficie de manera constante.⁶⁰ La exfoliación suave de las TZ DSNPs junto al estrato córneo podría eliminar el efecto de obstrucción de los poros. Además, esta película demuestra bastante resistencia al agua, dada su estabilidad tras continuos enjuagues con agua desionizada. Es fácilmente retirable con un aceite limpiador comercial sin dejar residuos. (Fig. 8 a y b). En cuanto a la resistencia al sudor, Yu *et al.* evalúan la estabilidad química de su formulación en condiciones fisiológicas. Para ello miden la liberación de iones metálicos de TZ DSNPs por espectrometría de emisión atómica ICP-OES en sudor artificial a 37 °C. Tras 9 horas observan una liberación de Ti y Zn elementales despreciable, lo que sugiere su bioseguridad y la posibilidad de futuras aplicaciones. (Fig. 8 c). Resumiendo, la fórmula DSNPs tiene un buen cumplimiento cosmético por su transparencia, facilidad de lavado y resistencia al agua y al sudor.

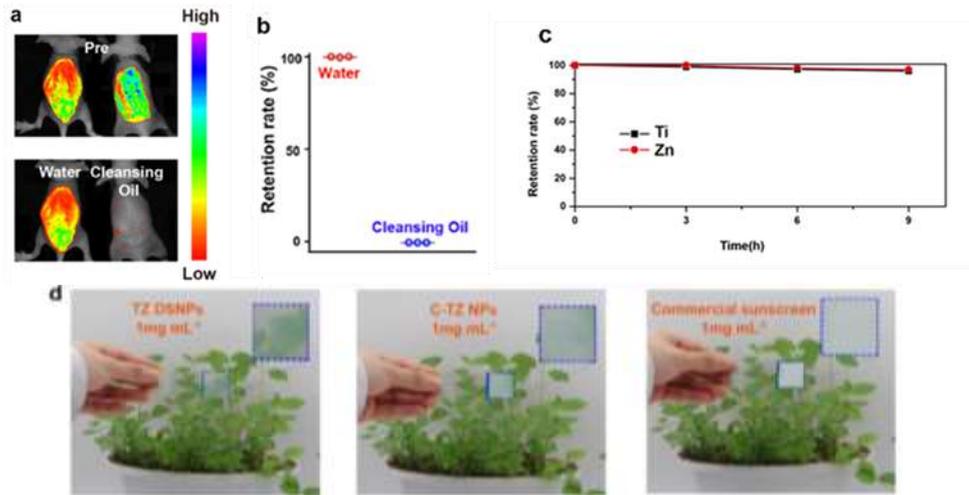


Fig 8. (a) Imagen IVIS de la retención en la piel tras lavado con agua o aceite limpiador (b) Retención cuantificada y normalizada (c) Análisis de la liberación de Ti y Zn elementales en sudor artificial. (d) Fotografías digitales de láminas de cuarzo cubiertas con TZ DSNPs, C-TZ NPs, y un protector comercial, respectivamente.⁶¹

V. CONCLUSIONES

1. La fotoprotección es esencial para la prevención de los efectos nocivos de la luz solar, sobre todo la fotocarcinogénesis UV.
2. Los protectores físicos parecen tener una mayor eficacia y un perfil más seguro frente a los filtros químicos.
3. La fórmula de DSNPs cumple las recomendaciones de los expertos por su gran eficacia, seguridad y buen cumplimiento cosmético, por lo que abre una nueva dimensión para diseños novedosos.
4. Existen dudas acerca de la estabilidad y seguridad a largo plazo de las DSNPs por sus aldehídos, productores potenciales de ROS.
5. Como posibles líneas futuras de investigación destaca la estandarización del método SPF y los nuevos factores de protección. La concienciación sobre la necesidad de protección solar y su individualización para diferentes subpoblaciones. Otra línea es la suplementación oral con agentes antioxidantes como *Polypodium leucotomos* y afamelanotida. Es necesario profundizar en la seguridad de los protectores a largo plazo, en particular en sus efectos neurotóxicos potenciales.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Clydesdale G, Dandie G, Muller H. Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunol. Cell. Biol.* [Internet]. 2001 [citado 16 may 2020];79:547–568. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2001.01047.x>
- ² Valencia A, Kochevar I. Nox1-based NADPH oxidase is the major source of UVA-induced reactive oxygen species in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2008 [citado 14 may 2020]; 128(1):214-22. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700960>
- ³ Wondrak G, Jacobson M, Jacobson E. Endogenous UVA-photosensitizers: mediators of skin photodamage and novel targets for skin photoprotection. *Photochem Photobiol Sci.* [Internet]. 2006 [citado 11 may 2020]; 5(2):215-37. DOI: <https://doi.org/10.1039/B504573H>
- ⁴ De Grujil F. Photocarcinogenesis: UVA vs. UVB. *Methods Enzymol* [Internet]. 2000 [citado 16 may 2020]; 319:359–366. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(00\)19035-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(00)19035-4)
- ⁵ Cadet J, Berger M, Douki T and Ravanat J. Oxidative damage to DNA: formation, measurement, and biological significance. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* [Internet]. 1997 [citado 16 may 2020]; 131, 1–87. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9204689>
- ⁶ Cleaver J. Common pathways for ultraviolet skin carcinogenesis in the repair and replication defective groups of xeroderma pigmentosum. *Journal of Dermatological Science* [Internet]. 2000 [citado 16 may 2020]; 23 (1):1-11. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0923-1811\(99\)00088-2](https://doi.org/10.1016/S0923-1811(99)00088-2)
- ⁷ Friedberg E, Aguilera A, Gellert M, Hanawalt P, Hays J, Lehmann A, Lindahl T, Lowndes N, Sarasin A, Wood R. DNA repair: From molecular mechanism to human disease. *DNA Repair* [Internet]. 2006 [citado 16 may 2020]; 5(8): 986-996. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2006.05.005>
- ⁸ Rittie L, Fisher G. Natural and Sun-Induced Aging of Human Skin. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2015 [citado 11 may 2020]; 5(1): a015370. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015370>
- ⁹ Matsumura Y, Ananthaswamy H. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* [Internet]. 2004 [citado 16 may 2020]; 195:298–308. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.08.019>
- ¹⁰ Hwang B, Noh E, Kim J, Kim J, Hwang J, Kim H, Kang J, Kim D, Chae H, You Y, et al. Decursin inhibits UVB-induced MMP expression in human dermal fibroblasts via regulation of nuclear factor- κ B. *Int. J. Mol. Med.* [Internet]. 2013 [citado 11 may 2020]; 31:477–483. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.1202>
- ¹¹ Cavinato M, Waltenberger B, Baraldo G, Grade CVC, Stuppner H, Jansen-Dürr. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology* [Internet]. 2017 [citado 11 may 2020];18(4):499-516. DOI:<https://doi.org/10.1007/s10522-017-9715-7>
- ¹² Pittayapruek P, Meephanan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016 [citado 11 may 2020]; 17(6): 868. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17060868>
- ¹³ Quan T, Qin Z, Xia W, Shao Y, Voorhees J, Fisher G. Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* [Internet]. 2009 [citado 14 may 2020];14:20–24. DOI:<https://doi.org/10.1038/jidsymp.2009>
- ¹⁴ Gilchrist B, Blog F, Szabo G. Effects of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin. *J Invest Dermatol* [Internet]. 1979 [citado 14 may 2020]; 73: 141–143. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/88488>
- ¹⁵ Lavker R. Cutaneous aging: Chronologic versus photoaging. In *Photodamage* (ed. Gilchrist BA) Blackwell Science, Cambridge, MA [Internet]. 1995 [citado 14 may 2020]; pp. 123–135. Disponible en: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Photodamage&author=RM+Lavker&author=BA+Gilchrist&publication_year=1995&
- ¹⁶ Vukmanovic-Stejic M, Rustin MH, Nikolich-Zugich J, Akbar AN 2011. Immune responses in the skin in old age. *Curr Opin Immunol* 23: 525–531. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.05.008>
- ¹⁷ Norval M. The mechanisms and consequences of ultraviolet-induced immunosuppression. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* [Internet]. 2006 [citado 16 may 2020]; 92 (1): 108-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.009>
- ¹⁸ Schwarz T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression. *Keio J Med* [Internet]. 2005 [citado 16 may 2020]; 54(4):165-71. DOI: <https://doi.org/10.2302/kjm.54.165>
- ¹⁹ Marín D, Del Pozo A. Pigmentación de la piel (I). Melaninas: conceptos generales e implicaciones cosméticas. *Offarm* [Internet]. 2005 [citado 20 may 2020]; 24(1):116-118. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-pigmentacion-piel-i-melaninas-conceptos-13070745>
- ²⁰ Gasparro F, Mitchnick M, Nash F. A Review of Sunscreen Safety and Efficacy. *Photochem. Photobiol.* [Internet]. 1998 [citado 20 may 2020]; 68 (3):243-256. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1998.tb09677.x>
- ²¹ Geoffrey K, Mwangi AN, Maru SM. Sunscreen products: Rationale for use, formulation development and regulatory considerations. *Saudi Pharm J* [Internet]. 2019 [citado mar 2020]; 27(7):1009-1018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.08.003>
- ²² Marín D, Del Pozo A. Filtros solares. Características, tipos y requerimientos. *Offarm* [Internet]. 2005 [citado 25 may 2020]; 24(9):175-178. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13079607>
- ²³ Green AC, Williams GM, Logan V, Strutton GM. Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up. *J Clin Oncol* [Internet]. 2011 [citado 1 abr 2020]; 29: 257-263. DOI: <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/jco.2010.28.7078>

- ²⁴ WHO: World Health Organization [Internet]. Geneva: WHO; c2020 [citado 6 abr 2020]. Ultraviolet radiation and the INTERSUN Programme. Sun protection . Disponible en: https://www.who.int/uv/sun_protection/en/
- ²⁵ D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV Radiation and the Skin. *Int J Mol Sci.* [Internet]. 2013 [citado 14 may 2020]; 14(6): 12222–12248. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms140612222>
- ²⁶ Boletín de la OMS 2017 [Internet]; 95:798-799. Disponible en: <https://www.who.int/bulletin/volumes/95/12/17-021217/es/>
- ²⁷ Krutman J, Passeron T, Gilaberte Y, Granger C, Leone G, Narda M, et al. Photoprotection of the future: challenges and opportunities. *J Eur Acad Dermatol* [Internet]. 2020 [citado mar2020]; 34(3):447-454. DOI: <https://doi.org/10.1111/jdv.16030>
- ²⁸ Molina Ruiz A. Relación médico-paciente en las redes sociales y las consultas más frecuentes que estos realizan. [Contenido YouTube]. Cantabria Labs Madrid; 2020. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=9gNS8fjkzw>
- ²⁹ Grether-Beck S, Marini A, Jaenicke T, Krutmann J. Effective photoprotection of human skin against infrared A radiation by topically applied antioxidants: results from a vehicle controlled, double-blind, randomized study. *Photochem Photobiol* [Internet]. 2015 [citado 8 abr 2020]; 91(1):248-50. DOI: <https://doi.org/10.1111/php.12375>
- ³⁰ Moyal D, Wichrowski K, Tricaud C. In vivo persistent pigment darkening method: a demonstration of the reproducibility of the UVA protection factors results at several testing laboratories. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* [Internet]. 2006 [citado 7 abr 2020]; 22(3):124-128. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0781.2006.00223.x>
- ³¹ Rainieri S, Barranco A, Primec M, Langerholc T. Occurrence and toxicity of musks and UV filters in the marine environment. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. 2017 [citado 3 jun 2020]; 104: 57-68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.012>
- ³² Gago-Ferrero P, Alonso MB, Bertozzi CP, Marigo J, Barbosa L, Cremer M et al. First determination of UV Filters in marine mammals. Octocrylene levels in Franciscana dolphins. *Environ. Sci. Technol.* [Internet]. 2013 [citado 26 may 2020]; 47:5619–5625. DOI: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es400675>
- ³³ Krause M, Klit A, Jensen M, Sjøborg T, Frederiksen H., Schlumpf M et al. Sunscreens: Are they beneficial for health? An overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. *Int. J. Androl* [Internet]. 2012 [citado 29 may 2020]; 35:424–436. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2012.01280.x>
- ³⁴ Matta MK, Zusterzeel R, Pilli NR, et al. Effect of Sunscreen Application Under Maximal Use Conditions on Plasma Concentration of Sunscreen Active Ingredients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* [Internet]. 2019 [citado mar 2020]; 321(21):2082–2091. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2019.5586>
- ³⁵ Janjua N, Mogensen B, Andersson AM, Petersen J, Henriksen M, Niels E et al. Systemic Absorption of the Sunscreens Benzophenone-3, Octyl-Methoxycinnamate, and 3-(4-Methyl-Benzylidene) Camphor After Whole-Body Topical Application and Reproductive Hormone Levels in Humans. *J. Invest. Dermatol.* [Internet]. 2004 [citado 29 may 2020]; 123(1):57-61. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.22725.x>
- ³⁶ Axelstad M, Boberg J, Hougaard K, Christiansen S, Jacobsen P, Mandrup K et al. Effects of pre- and postnatal exposure to the UV-filter octyl methoxycinnamate (OMC) on the reproductive, auditory and neurological development of rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol* [Internet]. 2011 [citado 29 My 2020]; 250:278–290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.10.031>
- ³⁷ Faass O, Schlumpf M, Reolon S, Henseler M, Maerkel K, Durrer S et al. Female sexual behavior, estrous cycle and gene expression in sexually dimorphic brain regions after pre- and postnatal exposure to endocrine active UV filters. *Neurotoxicology* [Internet]. 2009 [citado 29 may 2020]; 30:249–260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2008.12.008>
- ³⁸ Wang J, Pan L, Wu S, et al. Recent Advances on Endocrine Disrupting Effects of UV Filters. *Int J Environ Res Public Health.* 2016; 13(8):782. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph13080782>
- ³⁹ Kaiser D, Sieratowicz A, Zielke H, Oetken M, Hollert H, Oehlmann J. Ecotoxicological effect characterisation of widely used organic UV filters. *Environ. Pollut* [Internet]. 2012 [citado 29 may 2020]; 163:84–90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.014>
- ⁴⁰ European Commission. Towards the Establishment of a Priority List of Substances for Further Evaluation of Their Role in Endocrine Disruption. Delft, The Netherlands: BKH Consulting Engineers (in association with TNO Nutrition and Food Research, Zeist, The Netherlands), 2000. Final Report. Disponible en: https://ec.europa.eu/environment/archives/docum/pdf/bkh_main.pdf
- ⁴¹ Gilbert E, Pirot F, Bertholle V, Roussel L, Falson F, Padois K. Commonly used UV filter toxicity on biological functions: review of last decade studies. *Int J Cosmet Sci* [Internet]. 2013 [citado 3 jun 2020]; 35(3):208-19. DOI: <https://doi.org/10.1111/ics.12030>
- ⁴² Tran DT, Salmon R. Potential photocarcinogenic effects of nanoparticle sunscreens. *Australas J Dermatol* [Internet]. 2011 [citado 3 jun 2020]; 52(1):1–6. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-0960.2010.00677.x>
- ⁴³ Smijs T, Pavel S. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnol Sci Appl* [Internet]. 2011 [citado 3 jun 2020]; 4:95-112. DOI: <https://doi.org/10.2147/NSA.S19419>
- ⁴⁴ Therapeutics Good Administration. Literature review on the safety of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens. Symonston, ACT: TGA, 2013. Disponible en: <https://www.tga.gov.au/literature-review-safety-titanium-dioxide-and-zinc-oxide-nanoparticles-sunscreens>
- ⁴⁵ Jansen R, Osterwalder U, Wang S, Burnett M, Lim H. Photoprotection: Part II. Sunscreen: Development, efficacy, and controversies. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2013 [citado 3 jun 2020]; 69(6):867e1–14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.08.022>
- ⁴⁶ Schilling K, Bradford B, Castelli D, et al. Human safety review of "nano" titanium dioxide and zinc oxide. *Photochem Photobiol Sci* [Internet]. 2010 [citado 6 jun 2020]; 9(4):495-509. DOI: <https://doi.org/10.1039/B9PP00180H>
- ⁴⁷ Valle-Sistac J, Molins-Delgado D, Díaz M, Ibáñez L, Barceló D, Díaz-Cruz M. Determination of parabens and benzophenone-type UV filters in human placenta. First description of the existence of benzyl paraben and benzophenone-4. *Environ. Int.* [Internet]. 2016 [citado 26 may 2020]; 88:243–249. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.12.034>

-
- ⁴⁸ Schneider SL, Lim HW. Review of environmental effects of oxybenzone and other sunscreen active ingredients. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2019 [citado 4 jun 2020]; 80:266–271. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.06.033>
- ⁴⁹ Ruszkiewicz JA, Pinkas A, Ferrer B, Peres TV, Tsatsakis A, Aschner M. Neurotoxic effect of active ingredients in sunscreen products, a contemporary review. *Toxicol Rep* [Internet]. 2017 [citado 3 jun 2020]; 27(4):245-259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.05.006>
- ⁵⁰ McSweeney P. The safety of nanoparticles in sunscreens: An update for general practice. *Aust Fam Physician* [Internet]. 2016 [citado 4 jun 2020]; 45(6):397-399. Disponible en: <https://www.racgp.org.au/afp/2016/june/the-safety-of-nanoparticles-in-sunscreens-an-update-for-general-practice/#2>
- ⁵¹ Sun XW, Kwok HS. Optical properties of epitaxially grown zinc oxides films on sapphire by pulsed laser deposition. *J Appl Phys* [Internet]. 1999 [citado 5 jun 2020]; 86:408–411. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.370744>
- ⁵² Draelos Z. Compliance and sunscreens. *Dermatol Clin* [Internet]. 2006 [citado 8 jun 2020]; 24(1): 101-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.det.2005.09.001>
- ⁵³ Yu B, Ai K, Lu L. Dual-protective nano-sunscreen enables high-efficient elimination of the self-derived hazards. *Appl Mater Today* [Internet]. 2020 [citado abril 2020]; 18: 100493. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100493>
- ⁵⁴ Costa R, Santos L. Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants. *Powder Technol* [Internet]. 2017 [citado 7 jun 2020]; 322: 402-416. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.07.086>
- ⁵⁵ Morabito K, Shapley NC, Steeley KG, Tripathi A. Review of sunscreen and the emergence of non-conventional absorbers and their applications in ultraviolet protection. *Int J Cosmet Sci* [Internet]. 2011 [citado 7 jun 2020]; 33: 385-390. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2011.00654.x>
- ⁵⁶ Kozłowska M, Gruczyńska E, Ścibisz I, Rudzińska M. Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. *Food Chem* [Internet]. 2016 [citado 7 jun 2020]; 213: 450-456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.102>
- ⁵⁷ Aditya A, Chattopadhyay S, Gupta N, Alam S, Palillam Veedu A, Pal M et al. ZnO Nanoparticles Modified with an Amphipathic Peptide Show Improved Photoprotection in Skin. *ACS Appl Mater Interfaces* [Internet]. 2019 [citado 7 jun 2020]; 11 (1), 56-72. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.8b08431>
- ⁵⁸ Wang C, Wang D, Dai T, Xu P, Wu P, Zo Y et al. Skin Pigmentation-Inspired Polydopamine Sunscreens. *Adv Funct Mater* [Internet]. 2018 [citado 7 jun 2020]; 28:1802127. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/adfm.201802127>
- ⁵⁹ Suzuki N, Tomita Y. Silica-nanoparticle-dispersed methacrylate photopolymers with net diffraction efficiency near 100%. *Appl Opt* [Internet]. 2004 [citado 9 jun 2020]; 43(10):2125-9. DOI: <https://doi.org/10.1364/AO.43.002125>
- ⁶⁰ Deng Y, Ediriwickrema A, Yang F, Lewis J, Girardi M, Saltzman M. A sunblock based on bioadhesive nanoparticles. *Nature Mater* [Internet]. 2015 [citado 7 jun 2020]; 14, 1278–1285. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmat4422>