



Depilado enzimático. Aplicación de microscopía electrónica de transmisión en piel bovina

Garro, M.L.⁽¹⁾; Jurado S.B.⁽²⁾. Galarza, B.C. ⁽¹⁾; Barbeito C.G.⁽²⁾.; Cantera, C.S.⁽¹⁾

⁽¹⁾INTI-Cueros-CIC

⁽²⁾Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

Introducción

El desarrollo del depilado conservador del pelo está produciendo en la industria curtidora el desplazamiento de la tecnología tradicional ¹. Las enzimas depilatorias para alcanzar más rápidamente sus sitios de acción y depilar, deben atravesar los estratos de la epidermis ². Esta última representa una barrera que es necesario traspasar, por lo que debe prestarse debida atención a su composición y morfología para alcanzar mecanismos que permitan vulnerarla .

La primera barrera que opone la epidermis a la difusión se ubica en el estrato córneo. En esta zona, la principal ruta de penetración se sitúa en la región intercelular, sitio donde los lípidos desempeñan un papel irremplazable en la formación de la barrera hidrofóbica de la piel ^{3,4,5}

Dentro de este recorrido en la epidermis, encontramos en las células de las capas epidérmicas más basales medios de unión: uniones ocluyentes, zónulas adherens y desmosomas. Los desmosomas se componen de un "core" central de glicoproteína sensible a la tripsina y proteínas de membrana localizadas en la hoja extracelular denominadas desmocollinas (Ver Figura 1.)

De acuerdo a estudios realizados por Skerrow ⁶ la acción de la tripsina acompañada de moderado trauma mecánico (ligero estiramiento) elimina el material de los espacios entre los desmosomas. A su vez, la lámina basal que separa dermis de epidermis, también es susceptible a la acción de la tripsina. ⁷

Para analizar los cambios que producen los distintos tratamientos en la epidermis, se están aplicando técnicas físico-químicas(

espectroscopía FT-Raman)⁸, histológicas y microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las propiedades de la barrera epidérmica en bovinos, ovinos y caprinos, son menos conocidas que en humano, roedores y cerdos. La diferencia en el grosor de la epidermis hace que sea difícil extrapolar los resultados provenientes de ensayos realizados entre especies diferentes ⁹.

En este trabajo evaluamos el empleo de microscopía electrónica de transmisión para observar los cambios morfológicos en epidermis bovina producidos por sustancias capaces de permitir el paso de enzimas depilatorias a través de ella.

Presentamos el estudio de desmosomas tratados con terpenos y buffer fosfato y de lámina basal tratada con sulfito de sodio y terpenos .

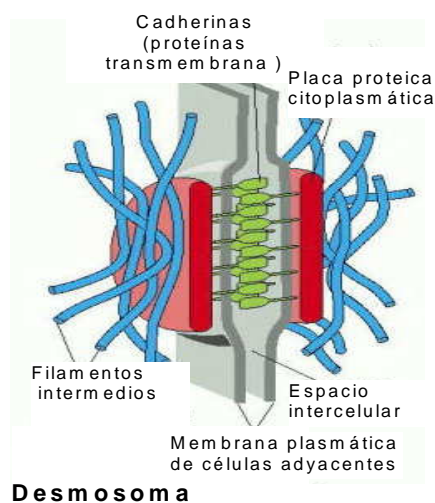
Metodología/Descripción Experimental

Muestras de piel bovina fresca proveniente de mataderos se colocaron en recipientes cilíndricos de 200 ml de capacidad donde se mantuvo en contacto del lado epidermis con los reactivos. (VerFoto1) . Durante el pretratamiento se realizó un ensayo con Terpenos al 1% en solución de tensioactivo comercial a base de alcohol graso etoxilado , y otro con sulfito de sodio 1,23g/l. Posteriormente para el tratamiento, se agregó al mismo envase en ambos ensayos y en iguales condiciones ,preparados enzimáticos comerciales elaborados en base a tripsina de origen pancreático (500 mg/l) durante 3 h. (Ver TABLA 1.)

Pretratamiento	Tiempo	Tratamiento	Tiempo
Terpenos 1%	2h	Tripsina 500 mg/l	3h
Sulfito de sodio 1,23g/l	2h	Tripsina 500 mg/l	3h

Tabla 1

Las muestras se fijaron en glutaraldehído al 2% en buffer de fosfato (pH 7,2-7,4) durante 2 horas a 4°C. La fijación secundaria se realizó con tetróxido de osmio al 1% durante 1 hora a 4°C. Posteriormente, las muestras se deshidrataron en una serie creciente de alcoholes y se incluyeron en resina epoxi. Los cortes ultrafinos (90 nm) se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo y fueron examinados en el microscopio electrónico de transmisión JEM 1200 EX II (JEOL) del Servicio Central de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.



RESULTADOS

En la epidermis bovina tratada con terpenos al 1% en solución de tensioactivo, ni los desmosomas ni la lámina basal presentaron diferencias ultraestructurales con respecto a los de la piel tratada con buffer bicarbonato 0,05M. (Ver Fotos 2 y 3)

En la piel tratada con sulfito de sodio 1,23g/l : se observa separación entre la lámina basal y la capa basal del epitelio basal (Ver Foto 4)

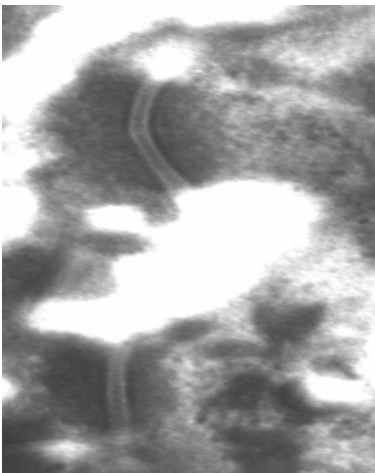
CONCLUSIONES

Estos resultados preliminares demuestran que la microscopía electrónica de transmisión es una herramienta útil para evaluar el efecto de los pretratamientos y tratamientos utilizados para la depilación de la piel bovina.

Referencias

- 1- Frendrup W. , UNEP Cleaner Production – Industrial Sector Guide Leather Industry, 1996.
- 2- Yates, J.R., 1969. Studies in depilation. IX. Effect of skin thickness and diffusion on the rate of depilation of sheepskins, J. Am.Leath.Chem.Ass, 64, 71-81,
3. Bronaugh ,R.L. ; Maibach, H.I. Optimizing Percutaneous Absorption. In Percutaneous Absorption- Mechanisms-Methodology- Drug Delivery. Second Edition. Marcel Dekker Inc.1989
4. Panchagnula, R. 1997. Transdermal Delivery of Drugs. Ind. J. Pharmacol. 29 :154-156
5. Williams, A.C. ; Barry, 2004 B.. Penetration enhancers .Adv. Drug Deliv . Rev. 56 603-618
- 6- Skerrow C, 1980.The experimental production of high-level intraepidermal splits", Brit J Dermatol, . 102, 75-83,
- 7- Zugno L1992. , The effect of trypsin on soaking of salt cured hides, J Am Leath Chem Ass. 87, 207-220,
8. Lawson E.E., Anigbogu A.N.C. 1998, Thermally induced molecular disorder in human stratum corneum lipids compared with a model phospholipids system; FT-Raman spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A 54 543-558.
9. Magnusson B. M., 2001 Veterinary Drug Delivery: potential for skin penetration enhancement, Adv. Drug Deliv.Rev- .(50), 205-227.

**Figura1
Desmosoma**



**Foto2
DESMOSOMAS Tratamiento
con BUFFER BICARBONATO
0,05M**

**Foto3 DESMOSOMAS
Tratamiento con
TERPENOS**

