

Aplicación de un sistema etosomal para mejorar la penetración de la cafeína a través de una crema para la eliminación de estrías

Leticia Ortega Almanza*, Itzel Magaly Luna Armas

Resumen

Las lesiones dérmicas conocidas como *striae distensae* son atrofias cutáneas causadas por el adelgazamiento y hundimiento localizado de la epidermis. La cafeína es ampliamente utilizada para tratar estas lesiones debido a sus efectos biológicos y propiedades anticelulíticas. Los sistemas etosomales están formados de partículas que, debido a su alta deformabilidad, eficiencia de atrapamiento y permeación, son vectores potenciales en el tratamiento de estrías. Se formaron sistemas etosomales y se incluyeron en dos cremas antiestrias mediante diseños experimentales de tipo factorial 2^2 utilizando aceites naturales súper refinado de sésamo y polietilenglicol 400. Se aplicaron las fórmulas en 20 individuos durante 12 semanas, encontrándose que en el 80% de ellos ambas cremas cuentan con efectividad similar.

Palabras clave: *Striae distensae*, cafeína, etosomas, aceite de sésamo, polietilenglicol 400.

Abstract

Dermal lesions known as *striae distensae* are cutaneous atrophies caused by localized thinning and sagging of the epidermis. Caffeine is widely used to treat these lesions due to its biological effects and anti-cellulite properties. Ethosomal systems comprise particles with high deformability, entrapment and permeation efficiency, thus these are potential vectors in the treatment of stretch marks. Ethosomal systems in two anti-stretch mark creams were developed by means of a 2^2 factorial experimental design using sesame oil and polyethylene glycol 400. Both formulas were applied on 20 individuals for 12 weeks, yielding similar effectiveness 80% of the patients.

Keywords: *Striae distensae*, caffeine, etosomes, sesame oil, polyethylene glycol 400.

Introducción

Las lesiones dérmicas comunes conocidas como estrías o *striae distensae* (SD) existen en dos formas: *striae rubrae* y *striae albae*. La etapa aguda (*striae rubrae*) se caracteriza por las lesiones eritematosas iniciales, rojas y estiradas que están alineadas perpendicularmente a la dirección de la tensión de la piel y pueden ser sintomáticas, mientras que la etapa crónica (*striae albae*) se clasifica cuando la SD se ha desvanecido y aparece atrófica, arrugada e hipopigmentada (Ud-Din, 2016). Aunque existen diversas modalidades de tratamiento, no se ha recomendado una terapia única eficaz para la erradicación de SD. La terapia más común consiste en la aplicación de productos tópicos, sin embargo, no todos tienen un nivel de evidencia científica suficiente para respaldar su uso continuo (Lokhande, 2016) (Jobster, 2004). Un ejemplo claro de tratamiento efectivo es la molécula de la cafeína, la cual se usa cada vez más en cosméticos debido a su alta actividad biológica. Un inconveniente de esta sustancia activa es su bajo nivel de penetración en la piel (Hernan, 2013) (Byun, 2015).

Antecedentes

Para aumentar la penetración en la piel de cafeína, se han estudiado las nanopartículas a base de lípidos flexibles como vectores potenciales para la administración transdérmica de fármacos debido a su efecto sobre la mejora de la permeabilidad del fármaco a través de la barrera del estrato córneo (Tarek, 2016). Un ejemplo de este tipo de partículas son los etosomas, los cuales poseen rasgos característicos únicos como alta deformabilidad, alta eficiencia de atrapamiento de fármacos y alta tasa de permeación transdérmica (Jain, 2007), (Fang, 2008). Además, su alta concentración de etanol provoca una alteración de la organización de la bicapa lipídica, por lo que cuando se integra en una membrana vesicular, confiere a la vesícula la capacidad de penetrar el estrato córneo (Touitou, 2001), (Saleem, 2011).

Objetivo

Elaborar cremas antiestrias basadas en sistemas etosomales con aceite de sésamo y polietilenglicol 400 para mejorar la penetración dérmica de la cafeína.

Metodología

Para la formación de los sistemas etosomales se utilizaron dos excipientes súper refinados por la ventaja funcional al tener menos impurezas. Se seleccionó el aceite de sésamo debido a que posee efectos farmacológicos de amplio espectro que incluyen efectos protectores y antiinflamatorios (Budowski, 2016). Además, este aceite es uno de los vehículos preferidos para las sustancias liposolubles, siendo usado en experimentos biológicos (D'Souza, 2016) (Ciencias Moleculares I, 2019). Por otro lado, se seleccionó el polímero polietilenglicol 400 (PEG 400), por sus propiedades solubilizantes, estabilizadoras y alta capacidad de hidratación, atributos que se consideraron favorables para el desarrollo del sistema etosomal (Gerson, 2012) (FEUM, 2018).

La elaboración de los etosomas se llevó a cabo mediante el método caliente con ligeras modificaciones. Primeramente, se colocó en un vaso de precipitado de 50 mL la cantidad de cafeína, etanol y agua destilada indicada en cada muestra correspondiente a las formulaciones. Es importante mencionar que previamente el etanol y el agua destilada fueron colocados en baño maría para obtener una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Una vez adicionados los reactivos fueron llevados a una parrilla de agitación, colocando un agitador magnético para facilitar su disolución.

Posteriormente, al lograr la disolución de la cafeína se colocó nuevamente en baño maría y con ayuda de un agitador mecánico Heidolph se sometió a 700 rpm para adicionar lentamente la cantidad de aceite súper refinado correspondiente.

Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Universidad Xochimilco de México.
*lortegaa@correo.xoc.uam.mx

Terminando la adición, se dejó durante 1 minuto bajo las mismas condiciones para facilitar la homogenización. Transcurrido el tiempo indicado, se retiró del baño maría y se sometió a 2000 rpm durante 5 minutos. (Angandi, 2013).

Para la evaluación clínica de las cremas, se seleccionaron 20 sujetos voluntarios, la selección se realizó preguntando a las personas de diferentes edades, sin importar sexo, etnia; si tenían estrías y estaban de acuerdo con participar en este estudio. Se firmó una carta de consentimiento informado donde se les indicaba como se debería usar la crema y su aplicación. Se realizó un análisis de riesgo de un proyecto anterior donde una formulación similar no causó daño alguno, por lo que en este proyecto se asumió que no tendría probabilidad de causar daño. En esta investigación se incorporó la cafeína por medio de etosomas para mejorar la penetración en la piel, aún así, en la carta se les informaba que si tenían reacción se podía abandonar el experimento. Como individuos de estudio nunca se les puso en riesgo, no habría un maleficio y sí un beneficio si se lograba una mejor penetración. No se usó una crema con cafeína comercializada ya que no se puede comparar por que la formulación de la crema contiene además de cafeína otros principios activos adicionales. El objetivo de estudio era ver si al usar etosomas para incorporar la cafeína se mejoraba la penetración de esta, debido a que la crema mencionada se observaba una pequeña cantidad de cafeína sin disolver. Se aplicó en una parte donde se tenía estrías y en otra parte con estrías no se aplicó de esta manera se podía observar si había o no diferencia con la crema.

El efecto se midió de manera observacional por los sujetos de estudio mediante el llenado de un formato en el que indicaban su apreciación, así como una fotografía que enviaban donde se observaba el área de aplicación y cambios.

Los resultados obtenidos fueron analizados bajo la premisa de que todos los sujetos de prueba hicieron uso de las cremas correctamente, puesto que cada individuo hizo uso de ellas desde sus casas sin recibir supervisión en todas las aplicaciones. En el consentimiento informado se les indicaba el procedimiento para la aplicación y como reportar, así como su anonimato.

Cuestionario entregado a los voluntarios para evaluar la mejora a través de las semanas de tratamiento

Materiales y reactivos

Etanol al 96% (Merck), metanol (J.T. Baker), cloroformo (J.T. Baker), agua destilada, cloruro de potasio (J.T. Baker), ácido sulfúrico 95% (Merck), bromuro de potasio (J.T. Baker), cafeína (BASF), aceite súper refinado de sésamo (Croda Inc.), polietilenglicol 400 súper refinado LQ-(MH) (Croda Inc.), glicerina B.P./USP (Droguería Cosmopolita), Germaben II (Droguería Cosmopolita), trietanolamina (Droguería Cosmopolita), Tween 80 (Droguería Cosmopolita), Carbopol 940 (Droguería Cosmopolita), vaselina líquida NF 55 (Droguería Cosmopolita), palmitato de isopropilo (Droguería Cosmopolita), alcohol cetílico (Droguería Cosmopolita), xiameter (R) PMX-200 Silicon fluido 350 CS (Droguería Cosmopolita), Span 80 (Droguería Cosmopolita), alantoina (Química Lufra), D- Pantenol (Química Lufra), vitamina E (Droguería Cosmopolita), aceite esencial de romero (Droguería Cosmopolita), aceite esencial de toronja (Droguería Cosmopolita), extracto centella (Droguería Cosmopolita).

Equipos: Balanza analítica (Shimadzu AUX120), mufla (30-X-PP1), estufa (INFISA DJ12), campana de extracción, microscopio óptico (LENOX), medidor de tamaño de partícula (HORIBA LA-950), espectrofotómetro (PERKLIN-ELMER 553 Fast Scan), agitador (Thermo Scientific Heidolph).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos
Líc. Química Farmacéutica Biológica
CUESTIONARIO
Fecha: _____

Instrucciones: Coloque una ✓ en la casilla correspondiente a cada semana de tratamiento seleccionando la imagen que describa su mejoría en las regiones elegidas (A y B) después de la aplicación de las cremas utilizando la siguiente escala:

-Sin mejoría: 😞 - Poca mejoría: 😐 - Mucha mejoría: 😊

Semana de aplicación	ZONA "A"			ZONA "B"			Observaciones
	😞	😐	😊	😞	😐	😊	
1		✓				✓	
2			✓			✓	
3			✓			✓	
4			✓			✓	
5			✓			✓	
6			✓			✓	
7			✓			✓	
8			✓			✓	
9			✓			✓	
10			✓			✓	
11			✓			✓	
12			✓			✓	

Análisis de materia prima

Se realizó el análisis a los excipientes súper refinados utilizados (aceite de sésamo y polietilenglicol 400), de acuerdo con las pruebas establecidas para cada monografía descritas en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2018) y en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM, 2013). Cumpliendo con las especificaciones farmacopéicas.

Desarrollo y validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de cafeína

Se desarrolló y validó un método espectrofotométrico UV simple, rápido y reproducible para la determinación cuantitativa de cafeína.

Desarrollo del método espectrofotométrico

Preparación de la solución stock

La solución stock estándar de cafeína se preparó disolviendo 100 mg de cafeína en 100 ml de agua destilada, proporcionando una concentración de 1000 µg/mL.

Preparación de la solución de trabajo

De la solución madre anterior se transfirieron 10 ml a un matraz volumétrico de 100ml y se completó el volumen hasta la marca con agua destilada para obtener una concentración de 100 µg/mL. La longitud de onda utilizada "λ-máx" fue de 270 nm (Sethuraman, 2013).

Preparación de la curva de calibración

Se realizaron diluciones a partir de la solución de 100 µg/mL usando metanol como disolvente para producir soluciones de 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5 y 15 µg/mL, respectivamente, utilizando matraces volumétricos de 10 mL. Posteriormente, se construyó el gráfico para el análisis de linealidad. Este procedimiento se realizó por triplicado.

Validación del método espectrofotométrico

La validación para el desarrollo del método UV se realizó mediante los parámetros de *linealidad*, *especificidad*, *precisión*, *exactitud* y

robustez, los cuales se estudiaron de acuerdo con las directrices marcadas en la *Guía de validación de métodos analíticos* editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C. y la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

Linealidad

Se prepararon tres curvas de calibración y se realizaron los cálculos respectivos señalados en la literatura.

Precisión del sistema

Se prepararon seis soluciones correspondientes a una concentración de 7.5 µg/mL y se obtuvieron sus absorbancias. Finalmente se realizó el cálculo de la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación.

Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC)

Se realizaron los cálculos con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión, calculándose la pendiente (b1), ordenada al origen (b0), coeficiente de determinación, y el intervalo de confianza de la pendiente.

Robustez

Se prepararon tres muestras con concentración de 10 µg/mL y se determinaron sus absorbancias durante tres días consecutivos. Con los datos generados se obtuvieron las concentraciones interpoladas con la curva de calibración obtenida tras el análisis de linealidad y se obtuvieron los porcentajes de recobro y diferencias absolutas.

Exactitud

Se prepararon seis soluciones correspondientes a una concentración de 7.5 µg/mL. Posteriormente se calculó la media aritmética de las concentraciones resultantes mediante la interpolación de las absorbancias en la curva de calibración obtenida en el parámetro de linealidad. Por último, se analizaron los porcentajes de recobro y el coeficiente de variación.

Especificidad

Se prepararon disoluciones de los reactivos utilizados para la preparación de los etosomas (etanol, aceite de sésamo y PEG 400) y se leyeron a 270 nm para descartar su intervención en las lecturas posteriores.

Diseño de experimentos

- Se elaboraron dos diseños de experimentos tipo factorial 2^2 , utilizándose como factores la concentración de etanol y la concentración del excipiente en cuestión como se muestra a continuación: Diseño experimental 2^2 : Etosomas con aceite de sésamo súper refinado
 - Variable A: Concentración de etanol A (1): 45% A (-1): 30%
 - Variable B: Concentración de aceite de sésamo B (1): 8% B (-1): 3%
- Diseño experimental 2^2 : Etosomas con PEG 400 súper refinado
 - Variable A: Concentración de etanol A (1): 45% A (-1): 30%
 - Variable B: Concentración de PEG 400 B (1): 6% B (-1): 2%

Observación microscópica

Se realizó la observación microscópica de los etosomas correspondientes a cada formulación con el objetivo de identificar la correcta formación de las vesículas, además de verificar la presencia o ausencia de cristales de cafeína sin incluir

en las vesículas. Estas observaciones se llevaron a cabo en un microscopio óptico con aumentos de 10x y 40x.

Determinación del contenido de cafeína

Se utilizó el método anteriormente validado, trabajando disoluciones correspondientes a una concentración aproximada de 2.5 µg/mL utilizando como disolvente metanol. Por último, se realizaron las lecturas a 270 nm y se interpolaron las absorbancias correspondientes en la curva de calibración.

Determinación del tamaño de partícula

Se prepararon disoluciones al 2% de las mezclas en vasos de precipitado y fueron leídas por el analizador, recopilado los datos del software.

Análisis de las variables de respuesta

Las variables de respuesta fueron el contenido de cafeína de cada formulación y el tamaño de partícula de las mezclas etosomales. Los datos fueron analizados mediante el software estadístico *Statgraphics Centurion XVIII*.

Elaboración de las cremas

Se elaboraron lotes de 1 kg de cada una de las dos cremas antiestrías desarrollada con la formulación en una investigación anterior. Cada fórmula contenía diferente sistema etosomal; el sistema correspondiente al aceite de sésamo fue denominado crema antiestrías “A” y el segundo, formado con PEG 400, se etiquetó como crema antiestrías “B”.

Prueba de estabilidad

Ciclado térmico

Se almacenaron las cremas “A” y “B” a una temperatura de $4\pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 h. Posteriormente fueron retiradas de refrigeración y almacenadas durante 24 h a una temperatura de $27\pm 2^\circ\text{C}$. El experimento se realizó durante dos ciclos (96 h) con el objetivo de evaluar el impacto de la temperatura en las propiedades de las cremas.

En múltiples estudios se ha mostrado la influencia de la temperatura en la estabilidad de emulsiones, debida a la existencia de una dependencia funcional de la temperatura en procesos que ocurren durante el rompimiento de la emulsificación.

Los resultados obtenidos coinciden con el comportamiento de muchas emulsiones en las que existe una barrera energética que las estabiliza que se ve alterada por las frecuencias de colisión influenciadas por altas temperaturas, las cuales ocasionan cambios en las propiedades reológicas y velocidades de sedimentación.

Se observó la similitud de la apariencia de las cremas antes y después del estudio.

Preparación de las muestras individuales para los sujetos de estudio

Se realizó la determinación de la dosis diaria individual para envasar la cantidad equivalente a 12 semanas de tratamiento en recipientes con tapa dispensadora.

Preparación de la documentación para el desarrollo clínico

Se redactó una carta de consentimiento informado para los individuos de prueba y se recabaron sus firmas con el fin de documentar su libre decisión para participar en el proyecto; también se diseñó un cuestionario para el registro del avance del ensayo clínico.

Análisis de los resultados de los tratamientos aplicados

Durante las 12 semanas de tratamiento se recopilaron las fotos de las zonas A y B de cada individuo junto con sus cuestionarios.

Resultados y discusión Análisis de materia prima

Se realizaron los análisis de materia prima de acuerdo con la FEUM vigente a: cafeína, aceite de sésamo, polietilenglicol 400 (Gerson,20121).

Desarrollo y validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de cafeína

Se llevó a cabo el análisis de linealidad del sistema, se estableció como valor de lapendiente (b_1) 0.048, con una ordenada al origen (b_0) de -0.009 y un coeficiente de determinación (r^2) de 0.999. El intervalo de confianza para la pendiente IC(BI) comprendió un intervalo de 0.025 a 0.072, cumpliendo la especificación de no incluir el valor de 0.

El cálculo de límite de detección (LD) dio como valor 0.898 $\mu\text{g}/\text{mL}$, el cual se encontraba por debajo del valor más pequeño de concentración utilizado en la curva de calibración (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Esto demostró que las concentraciones utilizadas en la curva serían detectadas en las condiciones de operación establecidas, con un IC(BI) de 0.072 - 0.045.

El límite de cuantificación (LC) fue de 2.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, el cual era semejante al valor obtenido experimentalmente que permitía una lectura precisa. Por otro lado, el sistema mostró el cumplimiento del parámetro de precisión al mostrar un coeficiente de variación de 0.230%. Para garantizar el parámetro de robustez se obtuvo una diferencia absoluta (d) de 1.73%, valor que cumplió con la especificación al ser $a \leq 3\%$.

La exactitud del método validado mostró un coeficiente de variación (0.224%) el cual cumplió con las especificaciones de ser $\leq 2\%$. Además de demostrar tener porcentajes de recobro dentro del intervalo (98-102%).

Se demostró la especificidad del método validado al demostrar que los reactivos utilizados en la elaboración de las mezclas etosomales no mostraban absorbancias significativas.

Observación microscópica de crema antiestrías A

La muestra correspondiente a la formulación *a* junto con su réplica, exhibió la presencia de vesículas de múltiples tamaños, además de la presencia de cristales de cafeína sin cargar. Este comportamiento también fue observado en las muestras correspondientes a las formulaciones *l* en donde la saturación se observaba de manera más evidente. En las muestras correspondientes a la formulación *ab* se logró visualizar mayor número de etosomas cargados, sin exhibir presencia de fármaco saturado sin inclusión. El comportamiento descrito también logró observarse en la crema antiestrías B; sin embargo, en estas últimas el número de etosomas aparentemente es mayor.

Estos resultados pueden justificarse debido a que, la concentración de fosfolípidos y aceites usados durante el desarrollo de sistemas etosomales, son factores importantes que influyen en el tamaño, eficacia de atrapamiento, estabilidad y las propiedades de penetración de las vesículas. Por este motivo, en la formulación con mayor concentración de fosfolípido se logró observar mayor número de formación de vesículas (Prasanthi, 2012).

Por lo tanto, en las formulaciones *b* y *ab*, la solubilidad de la cafeína se vio beneficiada cuando se colocó una mayor concentración de aceite, resultados que concuerdan con estrategias en materia de formulación de fármacos poco solubles en agua, en donde

su solubilidad se intensifica en formulaciones basadas en lípidos (Göke, 2017).

Diseño experimental: 22 Etosomas con Aceite de sésamo super refinado

Variable A: Concentración de etanol A (I): 45% A (-I): 30%

Variable B: Concentración de aceite de sésamo B (I): 8% B (-I): 3%

Tabla 1. Diseño factorial 22 elaborado para el desarrollo de las formulaciones de etosomas con aceite de sésamo super refinado

Muestra	Variable A % Etanol	Variable B % Aceite de sésamo
a	(I)	(-I)
b	(-I)	(I)
l	(-I)	(-I)
ab	(I)	(I)

Diseño experimental 22 etosomas con PEG 400 súper refinado

Variable A: Concentración de etanol A (I): 45% A (-I): 30%

Variable B: Concentración de PEG 400 B (I): 6% B (-I): 2%

Tabla 2. Diseño factorial 22 elaborado para el desarrollo de las formulaciones de etosomas con PEG 400 super refinado

Muestra	Variable A % Etanol	Variable B % PEG 400
b	(-I)	(I)
ab	(I)	(I)
l	(-I)	(-I)
a	(I)	(-I)

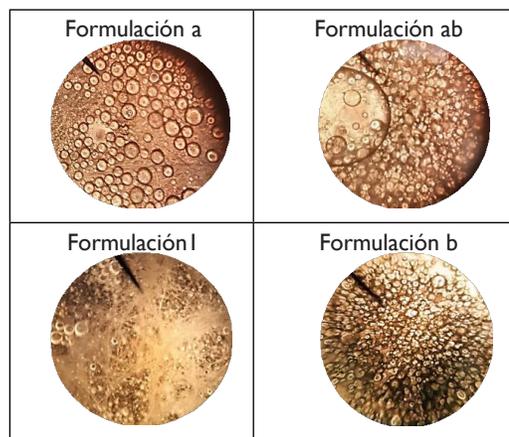


Figura 1. Imágenes de etosomas con aceite de sésamo súper refinado. Fuente: elaboración propia.

Observación microscópica de crema antiestrías A

A diferencia de los etosomas con aceite de sésamo, éstos no se lograron observar fácilmente con el aumento 40 X, además de que aparentemente existía un menor número de vesículas. El comportamiento de saturación, en donde se muestran cristales sin cargar en vesículas, se observó nuevamente en las formulaciones *l* y *a*. Esta saturación también se observó ligeramente en las mezclas de formulación *b*. Por los motivos anteriores, las mezclas preparadas utilizando la formulación *ab* fueron las candidatas ideales para ser incluidas. Este comportamiento puede justificarse debido a que las concentraciones de PEG 400 fueron menores a las del aceite de sésamo y, como se comentó anteriormente, esta

variable influye en las características de los etosomas (Limsuwan, 2012), (Vikas, 2014). Por otro lado, la composición del PEG 400 pudo influir en el número de etosomas formados, debido a que esta molécula cuenta con un alto carácter hidrofílico, lo cual repercute en que el sistema etosomal cuente con menor cantidad de moléculas (Chung, 1998) (Gerson, 2012).

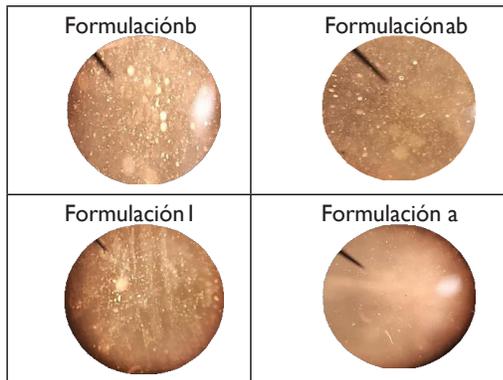


Figura 2. Imágenes de etosomas con PEG 400 súper refinado
Fuente: elaboración propia. Determinación del contenido de cafeína

Etosomas elaborados con aceite de sésamo super refinado

Después de los cálculos pertinentes se estableció la concentración promedio de cafeína en los etosomas correspondientes a cada formulación.

El porcentaje de cafeína promedio, correspondiente a las muestras etosomales preparadas con aceite de sésamo son para la formulación ab: 88.68%, a: 82.29 %, l: 62.34%, b: 98.68%.

Al igual que los resultados correspondientes a la observación microscópica, las muestras pertenecientes a formulación b, resultaron ser propicias para ser incluidas en la crema. Además, se encontró que la concentración del aceite de sésamo, así como la de etanol y la interacción de ambos no influyen de manera estadísticamente significativa en el contenido de cafeína.

El porcentaje de cafeína promedio, correspondiente a las muestras etosomales preparadas con PEG son para la formulación ab: 81.61%, a: 71.18%, l: 65.92%, b: 54.15%.

Por otro lado, de acuerdo con el análisis mediante el programa *Statgraphics Centurion XVIII* se determinó que el único factor que tiene un efecto estadísticamente significativo es la concentración de etanol.

Determinación del tamaño de partícula

Etosomas elaborados con aceite de sésamo

Promedio de tamaño en μm , ab: 2.81, a: 830.86, l: 33.45, b: 2.35

Tras el cálculo y análisis del promedio del tamaño de partícula se verificó que la elección ideal para incluir en la crema es la formulación b.

Etosomas elaborados con PEG 400

Por último, se analizó el tamaño de partícula de las mezclas etosomales elaboradas con PEG 400, confirmando aparentemente que la formulación ideal para incluirla en la crema es la ab, debido a que esta presenta el menor tamaño promedio de partícula de 2.48 μm , que a su vez coincide con el tamaño de la formulación a. El análisis estadístico demostró que, en esta variable de respuesta, los efectos de la concentración de etanol y PEG 400, así como la interacción entre estos dos tienen significancia estadística, por lo que se eligió la formulación ab.

Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura, ya que algunos estudios han sugerido que altas concentraciones de etanol causan la interpenetración de la cadena de hidrocarburos de etanol, lo que conduce a una reducción en el grosor de la membrana vesicular y, por lo tanto, reduce el tamaño vesicular. Otros autores sugieren que el etanol modifica la carga neta de los sistemas en un cierto grado de estabilización estérica, lo que podría conducir a una disminución en el tamaño (Aggarwal, 2016) (Abdulbagi, 2016).

Elección de las formulaciones para la realización de las cremas

Las formulaciones ideales para la realización de las dos cremas antiestrías son la formulación b correspondiente a la formulación usando aceite de sésamo y la formulación ab empleando PEG 400. Conteniendo los niveles alto de etanol, aceite de sésamo y PEG.

Prueba de estabilidad de las cremas Ciclado térmico

El comportamiento de las cremas A y B, en específico su homogeneidad se veía afectada por la temperatura de almacenamiento, debido a que a temperatura de 27.

$\pm 2^\circ\text{C}$ se desarrollaba la separación de 2 fases, una sólida y una líquida. Sin embargo, no se detectó cambio de color y olor en ninguna de las dos cremas.

Observaciones clínicas: tratamiento de las cremas antiestrías en 20 voluntarios

Después del monitoreo de 12 semanas de las dos zonas con estrías visibles de los 20 voluntarios, se obtuvo que, para la crema antiestrías A, el 35% de los individuos reportaron "mucho mejoría", 40% "poca mejoría" y un 25% "sin mejoría". De manera similar, en 30% de los individuos reportaron "mucho mejoría" al utilizar la crema B, mientras que el 55% reportaron "poca mejoría" y un 15% "sin mejoría". A pesar de que los porcentajes anteriormente mencionados fueron ligeramente diferentes, al evaluar la puntuación promedio final para cada crema, ambas mostraron poca mejoría demostrando tener un efecto similar, sin exhibir diferencias significativas. Además, para respaldar los resultados, las puntuaciones fueron sometidas a análisis estadístico.

Durante el seguimiento semanal del tratamiento se observó que había semanas en que los individuos reportaban mayor mejoría que en otras, por lo que el grado de conformidad reportado fue diferente. Cabe mencionar que todas las semanas los sujetos de prueba mostraron una mejora durante el uso del tratamiento, tanto para la crema A, como para la B, por lo que el 95% de los individuos concluyeron que su experiencia con el tratamiento fue satisfactoria y a 45% le interesaría seguir usando alguna de las cremas en otras partes del cuerpo.

Mediante el análisis de la encuesta de conformidad se obtuvo que un 80% de los voluntarios reportaron haber obtenido una mejora en ambas zonas, lo que sugiere que ambas cremas muestran un efecto similar. La similitud de efectividad de ambas cremas es justificable debido a que, como se comentó en un inicio, ambas son similares en formulación, tamaño de etosomas y porcentaje de cafeína. Estos resultados respaldan que el excipiente utilizado para la formación del sistema etosomal no influye significativamente en la efectividad de las cremas, por lo tanto, deben ser otros factores los causantes de las diferencias entre los resultados presentados por los individuos. Además, mediante la evaluación macroscópica y las puntuaciones marcadas por los individuos, los resultados indican que las personas que presentaron mejoría son del género femenino, ya que el 100% de quienes señalaron tener una mejoría mayor para ambas cremas eran mujeres. Además, el tipo de estría

parecía tener un impacto en el nivel de mejora debido a que, del 100% de individuos que obtuvieron la mayor mejoría utilizando la crema A, el 71.43% presentaban estrías eran del tipo *striae rubrae*. De manera similar 83.33% de los que obtuvieron mejoría mayor utilizando la crema B presentaban estrías del tipo *rubrae*.

Para justificar la variación entre los resultados obtenidos entre los distintos sujetos de prueba, debe retomarse la teoría básica acerca de este tipo de lesiones dérmicas. Como se comentó en un inicio, se sugiere la existencia de diversos tipos de estrías, atróficas, gravídicas, distensae, etc. Algunos autores para simplificar la caracterización sugieren englobar este tipo de lesiones en dos formas; *Striae rubrae* y *Striae albae* (Al-Himdani, 2014), (Dermatol 5, 2014).

Los resultados mostraron una mejoría mayor en pacientes con estrías *rubrae*, en este sentido, es de gran importancia contemplar el enfoque histopatológico, que indica que los pacientes con estrías *rubrae* requieren una reducción de la pigmentación; por el contrario, aquellos con estrías *albae* requieren un aumento en la pigmentación (Ud-Din, 2016). Además, en la etapa inicial (estrías *rubrae* "SR"), la epidermis es casi normal. A medida que se produce el envejecimiento de la lesión, la epidermis de estrías *albae* (SA) se adelgaza, causando atrofia con embotamiento de las crestas y ausencia de apéndices cutáneos (Al-Himdani, 2014) (Archan, 2019). De esta manera, resulta lógico pensar que el tipo de estría tiene un impacto significativo en el nivel de mejoría del tratamiento según el nivel de gravedad de la lesión dérmica. Asociado a los factores anteriormente mencionados, se encontró que los individuos que presentan mayor mejoría son del género femenino. En este sentido, está bien establecido que las hormonas esteroides sexuales endógenas influyen profundamente en la respuesta a diversas lesiones cutáneas (Gilliver, 2008).

Cada vez hay más pruebas de que los andrógenos endógenos (hormonas masculinas) y los estrógenos (hormonas femeninas), respectivamente, inhiben y mejoran la reparación de la piel, en donde se ha demostrado que los estrógenos aceleran la cicatrización de heridas. Por lo tanto, el progreso de la re-epitelización se ven influenciado por la biosíntesis de esteroides sexuales gonadales a los cuales se les considera la fuente de divergencia en la recuperación en heridas (Gilliver, 2008).

Finalmente, la recuperación de una lesión cutánea es un proceso complejo y multifacético que requiere la cooperación de células, citocinas, factores de crecimiento, enzimas y receptores residentes e inmigrantes. Para mejorar la apariencia y reducir los síntomas asociados con SD, deben ocurrir diversos procesos como: aumento de la producción de colágeno y actividad fibroblástica, incremento de la elasticidad y perfusión sanguínea, mejora en la proliferación celular, aumento de la hidratación de la piel y propiedades antiinflamatorias, procesos probablemente relacionados con mecanismos hormonales (Harmelin, 2016).

Conclusiones

El estudio reveló cambios significativos en las zonas tratadas con las cremas antiestrías, las cuales mostraron efectividad similar según el 80% de los individuos sometidos al tratamiento. Sin embargo, la mejora resultó diferente entre los sujetos de prueba, así como, entre las dos zonas de cada uno, probablemente debido a las diferencias características de las lesiones dérmicas tratadas, dependiendo del tipo de estría (*rubrae* y *albae*), así como diferencias fisiológicas de cada sujeto de prueba (factores hormonales). Se observó una mejora en los resultados obtenidos en comparación de la crema sin etosomas elaborada anteriormente. Además de que no hay una diferencia entre el aceite de sésamo PEG 400 para cargar la cafeína. Finalmente, las pruebas de estabilidad mostraron que la estabilidad de ambas cremas se vería afectada frente a cambios de temperatura; presentándose separación de fases, se observó que las cremas eran físicamente inestables cuando se almacenaban a temperaturas ambientales altas. Sin embargo, no se detectó cambio de color y olor en ninguna de las dos cremas, además de que, aparentemente los etosomas no se veían comprometidos ya que aún lograban visualizarse algunas vesículas que parecieran ser etosomas. Por lo que se debe realizar un análisis para mejorar las formulaciones y con ello su estabilidad, ante estímulos ambientales, en específico los cambios altos de temperaturas.

Referencias

1. Ud-Din S MDBA. Topical management of striae distensae (stretch marks): prevention and therapy of striae rubrae and albae. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016; 30(2).
2. Lokhande A MV. Striae Distensae Treatment Review and Update. *Indian Dermatol Online J*. 2019; 10(4).
3. W L. Asociaciones clínicas de estrías gravídicas. *J Obstet Gynaecol*. 2004; 24.
4. Hernan A HP. Caffeine's Mechanisms of Action and Its Cosmetic Use. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2013; 26(1).
5. Byun S KHHHSJHMIJ. Efficacy of Slimming Cream Containing 3.5% Water- Soluble Caffeine and Xanthenes for the Treatment of Cellulite: Clinical Study and Literature Review. *Annals of Dermatology*. 2015; 27(3).
6. Tarek A KMBUAFA. Transdermal glimepiride delivery system based on optimized ethosomal nano-vesicles: Preparation, characterization, in vitro, ex vivo and clinical evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016; 500(1).
7. Jain S TASBJN. Formulation and evaluation of ethosomes for transdermal delivery of lamivudine. *AAPS PharmSciTech*. 2007; 8(4).
8. Fang Y TPWCHY. Comparison of 5-aminolevulinic acid-encapsulated liposome versus ethosome for skin delivery for photodynamic therapy. *Int J Pharm*. 2008; 1.
9. Touitou E GBDNWCPASF. Intracellular delivery mediated by an ethosomal carrier. *Biomaterials*. 2001; 22(22).
10. Saleem T. BS, MG, RP, KN, CC. Analgesic, anti-pyretic and anti-inflammatory activity of dietary sesame oil in experimental animal models. *Pharmacologia*. 2011; 2(6).
11. Budowski P. MK. Las propiedades químicas y fisiológicas del aceite de sésamo. *Chemical Reviews*. 1951; 48(1). 2016.
12. D'souza A. SR. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Journal Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016; 13.
13. Gerson A. HA, MF, KM, AJ. Volumetric properties of (PEG 400 + water) and (PEG 400 + ethanol) mixtures at several temperatures and correlation with the Jouyban-Acree model. *Rev. colomb. cienc. quim. farm.* 2012; 41(2).

14. S.O. Química del café. Módulo de referencia en química, ciencias moleculares e ingeniería química. 2019; 1.
15. Secretaría de Salud FEUM. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 12th ed. México; 2018.
16. Secretaría de Salud FHEUM. Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM). 2nd ed.; 2013
17. Sethuraman S. RK, ST. Analytical Method Development and Validation of Caffeine in Tablet Dosage Form By Using UV-Spectroscopy. JNTPS. 2013..
18. Prasanthi D. LP. Development of ethosomes with Taguchi robust design- based studies for transdermal delivery of alfuzosin hydrochloride. Int Curr Pharm J. 2012; 1(11).
19. Göke K. BH. Drug solubility in lipid nanocarriers: Influence of lipid matrix and available interfacial area. Int J Pharm. 2017; 30(1).
20. Limsuwan T. AT. Development of Ethosomes Containing Mycophenolic Acid. Procedia Chemistry. 2012; 4.
21. Vikas P. GD, SR. Ethosomes: versatile vesicular carriers for efficient transdermal delivery of therapeutic agents. Drug Delivery. 2014.
22. Chung C. TJ. Analysis of the Three Essential Constituents of Oil Bodies in Developing Sesame Seeds. Plant Cell Physiol. 1998; 39(1).
23. Gerson A. HA, MF, KM, AJ. Volumetric properties of (PEG 400 + water) and (PEG 400 + ethanol) mixtures at several temperatures and correlation with the Jouyban-Acree model. Rev. colombiense quim farm. 2012; 41(2).
24. Aggarwal D. NU. Ethosomes: A review. International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research. 2016; 4(4).
25. Abdulbagi I. DY, KN, AR, KA. Ethosomal nanocarriers: the impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, in vivo studies, and clinical trials. Int J. Nanomedicine. 2016; 11.
26. M. E. Tretinoína tópica en el tratamiento de estrías distensae y en la promoción de la cicatrización de heridas: una revisión. J. Dermatol Treat. 1994; 5.
27. Al-Himdani. UDS, GS, BA. Striae distensae: a comprehensive review and evidence-based evaluation of prophylaxis and treatment. Br. J. Dermatol. 2014; 170(3).
28. Archana J. VM. Striae Distensae Treatment Review and Update. Indian Dermatol Online J. 2019; 10(4).
29. Gilliver C. JP, RM, HJ, TN, GS. Sex Dimorphism in Wound Healing: The Roles of Sex Steroids and Macrophage Migration Inhibitory Factor. Endocrinology. 2008; 149(11).
30. Harmelin Y. Fractionated Bipolar Radiofrequency and Bipolar Radiofrequency Potentiated by Infrared Light for Treating Striae: A Prospective Randomized, Comparative Trial with Objective Evaluation. Lasers in Surgery and Medicine. 2016; 48.
31. Angadi J. SK, SN, KB, BC. Ethosomes: A novel drug carrier for transdermal drug delivery. International Journal of Innovative Drug Discovery. 2013; 3(1)

ANEXOS

Carta de consentimiento informado entregada a los voluntarios:



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos

Lic. Química Farmacéutica Biológica

Fecha: 16 de marzo 2020

Protocolo: Aplicación de una crema con aceites naturales para la eliminación de estrías.

Antes de participar en el estudio que se le ha propuesto, es importante que esté informado acerca de las características del mismo y que esté de acuerdo con los procedimientos a los que será sometido. Su participación en el estudio es completamente voluntaria.

Procedimiento:
Su participación en el estudio consistirá en lo siguiente:

- a. Definir zona A y zona B, a cualquier parte de su cuerpo en donde tenga estrías visibles y colocar una gota en el centro de la falangeta del dedo índice utilizando las 2 cremas correspondientes (A, B). Aplicar diariamente en las mismas zonas durante 3 meses.
- b. Tomar una fotografía cada semana de la zona tratada y enviarla a la Q.F.B. Itzel Magaly Luna Armas al número 5577299947.
- c. Responder el cuestionario anexo para registrar los resultados positivos o negativos obtenidos a partir de la aplicación de las cremas.

Riesgos
Si observa enrojecimiento o ardor en la zona administrada deberá suspender la aplicación de inmediato e informar a la Q.F.B. Itzel Magaly Luna Armas.

Confidencialidad
La información clínica recopilada es estrictamente confidencial. El nombre de los participantes nunca aparecerá en ningún reporte o publicación, para el desarrollo del estudio se siguen los reglamentos internos correspondientes.

Contactos
Para cualquier duda o aclaración sobre este estudio puede comunicarse al teléfono 5577299947 o 5522854496 con la Q.F.B. Itzel Magaly Luna Armas.

Calz. Del Hueso 1100. Villa Quietud, C.P. 040960. Ciudad de México., www.xoc.uam.mx/

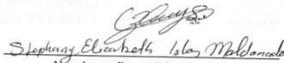
Consentimiento
Gracias por tomarse el tiempo de leer detenidamente esta información y por participar en el estudio.

A través de la presente, otorgo mi consentimiento para participar como voluntario en el protocolo de investigación "Aplicación de una crema con aceites naturales para la eliminación de estrías".

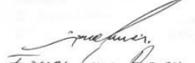
Hago constar que he recibido toda la información acerca de la naturaleza y propósito del estudio. He recibido, leído y entendido la carta de información del estudio, así como el riesgo descrito. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento.

Entiendo que recibiré una copia firmada y fechada del mismo.

Estoy de acuerdo que la información clínica derivada del estudio, sea informada a la comunidad médica verbalmente o por escrito, pero sin revelar mi identidad.



Nombre y firma del voluntario



Nombre y firma del testigo 1



Nombre y firma del investigador que obtuvo el consentimiento