

TESINA PARA LA OBTENCIÓN DE LA
LICENCIATURA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Envejecimiento cutáneo: Mecanismos fisiológicos
subyacentes y determinación de la eficacia
cosmética de un producto anti-age mediante la
aplicación de instrumentos de bioingeniería cutánea



Luciana Pereira Arcidiácono

Profundización: Fisiología y Nutrición

Orientador: Ali Saadoun

Agradecimientos

Agradezco al Laboratorio Onacril S.A por la financiación del estudio, y por haberme dado la posibilidad de realizar allí mi pasantía, bajo la tutoría de Ali Saadoun, a quien también agradezco por el tiempo dedicado y los conocimientos impartidos para la realización de esta tesina. En particular, doy gracias también a Laura Fuentes, Estela Kaplanski y Jorge Ferrari por haberme incluido en el excepcional grupo de trabajo con quien llevamos a cabo el presente estudio. Me gustaría agradecer también la colaboración de Felicia Rivera-Megret por sus aportes de información sobre *Achyrocline satureioides*.

Quiero agradecer también a mi familia y mi novio Federico por su apoyo incondicional durante toda la carrera.

Por último, agradezco a mis compañeros de clase, quienes transitaron este camino junto a mí realizando aportes invaluable tanto desde un punto de vista profesional como personal.

Índice

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	6
PREDICCIONES	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
ENVEJECIMIENTO CRONOLÓGICO	8
ENVEJECIMIENTO EXTRÍNSECO	10
ANÁLISIS DE CIERTOS ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y ESTRUCTURALES DE LA PIEL Y SU ALTERACIÓN EN EL ENVEJECIMIENTO CUTÁNEO	14
<i>La Barrera Cutánea y la Hidratación epidérmica.....</i>	<i>14</i>
<i>La Matriz extracelular (MEC) dérmica</i>	<i>18</i>
<i>Propiedades mecánicas de la piel.....</i>	<i>21</i>
<i>Arrugas: formación y un ejemplo para su ponderación.....</i>	<i>22</i>
TRATAMIENTO COSMÉTICO DEL ENVEJECIMIENTO CUTÁNEO: SUS MOTIVOS Y REQUERIMIENTOS	25
<i>La Crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) como ejemplo de formulación anti-age.....</i>	<i>27</i>
<i>Bioseguridad de la Crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) y sus componentes.....</i>	<i>33</i>
MATERIALES Y MÉTODOS	35
DISEÑO DE ESTUDIO	35
SUJETOS DE ESTUDIO	35
VALORACIÓN DE DATOS	37
<i>Cuestionario.....</i>	<i>37</i>
<i>Fotografía</i>	<i>38</i>
<i>Evaluación de las propiedades de la piel</i>	<i>44</i>
<i>Análisis estadístico.....</i>	<i>46</i>
<i>Fuente de financiación.....</i>	<i>47</i>
RESULTADOS.....	47
CUESTIONARIOS	48
FOTOGRAFÍA.....	51
PROPIEDADES FISIOLÓGICAS CUTÁNEAS.....	56
<i>Correlaciones</i>	<i>56</i>
<i>Hidratación</i>	<i>57</i>
<i>Pérdida transepidérmica de agua.....</i>	<i>60</i>
<i>Lípidos en superficie.....</i>	<i>63</i>
<i>Elasticidad.....</i>	<i>65</i>
DISCUSIÓN	67
CUESTIONARIOS	67
FOTOGRAFÍAS	72
PROPIEDADES FISIOLÓGICAS CUTÁNEAS.....	79
<i>Hidratación</i>	<i>79</i>
<i>Pérdida transepidérmica de agua.....</i>	<i>83</i>
<i>Lípidos en superficie.....</i>	<i>85</i>
<i>Elasticidad.....</i>	<i>86</i>
CONSIDERACIONES.....	89
LIMITACIONES DEL ESTUDIO	90
CONCLUSIONES.....	92
PERSPECTIVAS.....	94
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

Resumen

Introducción: El envejecimiento cutáneo constituye un proceso multicausal, en el que intervienen conjuntamente factores internos y externos. Asimismo, involucra un sinfín de anomalías a nivel fisiológico y estructural, que resultan en expresiones clínicas variadas. Dichas manifestaciones constituyen a menudo la primera evidencia fehaciente y aparente del proceso involutivo.

Si bien el envejecimiento cutáneo constituye un proceso inexorable, gracias al creciente desarrollo tecnológico y científico, impulsado mayoritariamente por la imposición social para mantener un aspecto joven, existe actualmente una amplia variedad de metodologías y formulaciones cosméticas, creadas con la finalidad de lograr atenuar o disminuir las manifestaciones del envejecimiento cutáneo.

Materiales y métodos: La crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) contiene en su formulación sustancias activas a las que les atribuyen la propiedad de minimizar ciertas alteraciones ocurridas como consecuencia del proceso involutivo. En este estudio, se realizará una revisión previa de dichas propiedades en conjunto con los mecanismos fisiológicos implicados en el envejecimiento, y se pondrá a prueba la eficacia cosmética de dicho producto, en mitigar algunas de las expresiones clínicas de la involución. Con este fin, se diseñó un estudio en 21 voluntarias de sexo femenino, y hará uso de instrumentos de bioingeniería cutánea para determinar la eficacia de la crema en modificar ciertas propiedades de la piel. A su vez, se realizará un registro fotográfico para la evaluación de las arrugas faciales, además de un cuestionario para determinar la apreciación de cada voluntaria sobre las posibles modificaciones de su rostro.

Resultados: La mayoría de las voluntarias lograron percibir mejorías en distintos aspectos de su rostro y a la vez se mostraron conformes con las características de la crema. La evaluación fotográfica indicó que en el 61,90% de los casos existieron mejorías en al menos una de las distintas arrugas evaluadas. En cuanto a la evaluación de las propiedades de la piel medidas con el instrumento de bioingeniería, la hidratación fue la única de estas en mostrar incrementos estadísticamente significativos en las cuatro regiones faciales evaluadas.

Conclusiones: La revisión bibliográfica pretende contribuir a una mejor comprensión de los múltiples factores que influyen al envejecimiento cutáneo, y recalcar la importancia de una concepción holística del proceso para procurar un mejoramiento de las manifestaciones clínicas de este. La evaluación de la eficacia de la crema, observó tanto contradicciones como concordancias respecto a lo esperado según las propiedades previamente atribuidas a los activos de la crema.

Palabras clave: envejecimiento cutáneo, bioingeniería cutánea, propiedades biofísicas cutáneas, eficacia cosmética.

Introducción

El envejecimiento cutáneo constituye un proceso multifactorial complejo que resulta de dos sucesos independientes: el envejecimiento intrínseco o cronológico y el envejecimiento extrínseco o fotoenvejecimiento cutáneo (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007; Farage et al., 2008; Lozada & Rueda, 2010). Este proceso senescente es dilucidado por cambios morfológicos y funcionales que se producen en la piel tanto a nivel celular como molecular. Consecuentemente, se producen diversas alteraciones en el cumplimiento de las funciones cutáneas, lo cual se manifiesta clínicamente con la aparición de arrugas, sequedad, elasticidad reducida, enlentecimiento en el proceso de cicatrización y cambios en la pigmentación de la piel, entre otros (Bilodeau & Lacasse, 2008).

El aumento de la esperanza de vida junto con el incremento demográfico resultante han hecho del envejecimiento cutáneo, una cuestión de salud que preocupa a gran parte de la población (Vierkötter et al, 2009). De hecho, el gran interés que ha adquirido la búsqueda de la “eterna juventud” y la minimización de los signos de envejecimiento ha generado un gran mercado para los productos cosméticos que afirman ejercer efectos anti-edad (Pena Ferreira, Costa & Bahia, 2010).

El tratamiento del envejecimiento cutáneo puede ser abordado desde múltiples perspectivas. Un ejemplo, es actuando a nivel tópico aplicando sustancias con una actividad biológica definida, que gracias a sus propiedades, intentan devolverle la funcionalidad a la piel y contribuir a romper y/o atenuar el proceso involutivo (Vierkötter, et al, 2009). Esto es debido a que dichos compuestos son capaces de modular ciertos procesos moleculares involucrados en la patogénesis del envejecimiento cutáneo (Vierkötter et al, 2009).

El avance de la investigación científica le otorga al consumidor actual un mayor caudal de información acerca de la tecnología de los productos de cuidado cosmético. Este incremento en el conocimiento de los consumidores, ha resultado en un rápido aumento en las demandas de pruebas de eficacia cosmética, en especial para los productos anti-age (Callaghan & Wilhelm, 2008; Pena Ferreira, Costa & Bahia, 2010). Conjuntamente, el testeo de la eficacia de dichos cosméticos resulta crucial no solo

para el consumidor, sino también para dermatólogos, la propia industria cosmética y aquellas instituciones reguladoras de esta área (Vierkötter, et al, 2009). Con este fin, los ingredientes activos de los cosméticos y el producto final, deberán ser testeados para la evaluación y comprobación de la seguridad, compatibilidad y eficacia (Dupont et al, 2010; Dobrev, 2011). Las estimaciones sobre la seguridad, incluyen el testeo en voluntarios humanos, la cual deberá ser precedida por evaluaciones en animales o in vitro (Salter, 1996; Rogiers, et al, 1999 citados por Dobrev, 2011). La eficacia de los supuestos beneficios atribuídos al producto pueden ser demostrados por estudios conducidos en voluntarios humanos, en los cuales se miden los efectos observados haciendo uso de instrumentos no invasivos de bioingeniería cutánea (Rogiers, 1995).

La crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) constituye un ejemplo de un cosmético anti-age. Esto se debe a que gracias a las propiedades atribuidas a los activos contenidos en su formulación, se considera que posee la capacidad de contrarrestar distintos aspectos del envejecimiento cutáneo.

Objetivos

En base a lo estipulado anteriormente, los objetivos del presente estudio serán:

- Hacer uso de la literatura científica actualmente disponible para realizar una revisión de las características, manifestaciones clínicas, anomalías funcionales e histológicas del envejecimiento cutáneo, profundizando en ciertos aspectos fisiológicos de dicho proceso involutivo. A su vez, en base a información técnica recabada, se procederá a exponer las propiedades previamente atribuidas a los componentes de la crema como un ejemplo de tratamiento tópico del envejecimiento cutáneo.
- Evaluar la eficacia de la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) en la atenuación de los siguientes signos del envejecimiento cutáneo: deshidratación, daño en la función de barrera cutánea, arrugas, pérdida de elasticidad y disminución en el contenido lipídico superficial. Para ello, mediante el uso de instrumentos no invasivos de bioingeniería cutánea fueron medidos ciertos parámetros de la piel: hidratación, pérdida transepidérmica de agua (TEWL), elasticidad y niveles de lípidos en superficie. De manera que, las

variaciones de dichos parámetros estimadas en el transcurso del estudio podrán ser reflejo de los posibles cambios producidos en estos signos de involución cutánea como consecuencia de la utilización de la crema. A su vez, mediante la realización de un cuestionario se evaluó la percepción individual de los cambios que puedan producirse en el propio cutis de cada sujeto durante el estudio. Conjuntamente, se fotografió a cada sujeto de estudio al comienzo y al final del mismo, para determinar objetivamente la existencia de posibles cambios en las arrugas de su rostro.

Predicciones

La revisión de los mecanismos fisiológicos sobre los que asienta el envejecimiento cutáneo, permitirá una mayor comprensión acerca de cómo se producen las manifestaciones clínicas, y por tanto, cómo podría procederse para atenuarlas.

Por otro lado, teniendo en cuenta las alteraciones ocurridas en la involución, en conjunto con las propiedades presupuestas de los activos encontrados en la formulación de la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay), es posible suponer que la misma tendrá la capacidad de contrarrestar distintos aspectos del envejecimiento cutáneo. Conforme a dichas disposiciones, como resultado de la utilización de la crema se esperará observar una mejoría en la apariencia de la piel envejecida. Particularmente, en lo que respecta a la evaluación de las propiedades de la piel, se espera obtener un incremento en la hidratación y elasticidad cutáneas, y una normalización de los valores de TEWL y los niveles de lípidos en superficie. A su vez, se espera que cada voluntaria perciba mejorías en su propio rostro y que la comparación fotográfica manifieste objetivamente una disminución en la severidad de las arrugas presentes en el cutis de los sujetos de estudio.

Revisión Bibliográfica

Envejecimiento cutáneo

Al igual que todos los órganos del cuerpo, con el paso del tiempo la piel sufre un progresivo deterioro morfológico y fisiológico (Makrantonaki & Zouboulis, 2007; 2008). Sin embargo, en la piel, este daño se ve potenciado por la gran variedad de agravios ambientales que la afectan física, química y mecánicamente (Zouboulis & Makrantonaki, 2011). Por tanto, el envejecimiento cutáneo constituye un modelo visible de interacción entre factores intrínsecos y extrínsecos. Esto se debe a que los cambios asociados al envejecimiento cutáneo son resultado de dos procesos independientes: el envejecimiento intrínseco o cronológico y el envejecimiento extrínseco o fotoenvejecimiento. A pesar de que existe evidencia que sugiere que ambos procesos difieren en sus mecanismos biológicos, bioquímicos y moleculares (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007), sus efectos se superponen entre sí a lo largo de la vida del individuo (Billek, 1998).

La comprensión de los mecanismos que subyacen al envejecimiento cutáneo, resulta de gran importancia para hacer uso de las distintas modalidades que pueden atenuarlo, de manera correcta y segura (Zouboulis & Makrantonaki, 2011).

Envejecimiento Cronológico

El envejecimiento cronológico se debe al pasaje del tiempo y está influenciado por la composición genética individual (Bilodeau & Lacasse, 2008) en asociación con cambios hormonales y biomecánicos (Friedman, 2005). Las manifestaciones clínicas y los cambios histológicos y funcionales de dicho proceso, se observan en la Tabla 1, 2 y 3 respectivamente.

Con respecto a las causas del envejecimiento cronológico, existen distintas teorías que intentan explicarlo. Entre estas, encontramos aquellas que refieren a mecanismos genéticamente programados, que incluyen las hipótesis de la existencia de “genes de longevidad” y la de la intervención de los telómeros en el proceso del envejecimiento intrínseco. La primera refiere a la presencia de genes capaces de modular la

expectativa de vida, modulando las respuestas al estrés, detectando el estado nutricional del individuo (Floréz-White, 2011), aumentando la capacidad metabólica y silenciando los genes que promueven el envejecimiento (Kennedy, 2008; Floréz-White, 2011). La segunda hipótesis, propone que el acortamiento natural y progresivo de los telómeros, juega un papel importante en el proceso de envejecimiento cronológico (Baumann, 2007; Floréz-White, 2011). Según dicha teoría, dichas estructuras podrían, eventualmente, resultar demasiado cortas para permitir una nueva mitosis, llevando así a la senescencia celular y finalmente a la apoptosis, funcionando entonces como un “reloj biológico” (Baumann, 2002; Yaar & Gilchrest, 2003; Puizina-Ivić, 2008 citados por Floréz-White, 2011). Según la Teoría de los Radicales libres, los cambios relativos a la involución ocurren principalmente como consecuencia del daño endógeno acumulado debido a la continua formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), resultantes del metabolismo celular oxidativo (Floréz-White, 2011).

Tabla 1: Manifestaciones clínicas del Envejecimiento Intrínseco y Extrínseco. **(1)** Darlenski, Callaghan y Fluhr, 2011; **(2)** Zouboulis & Makrantonaki, 2011; **(3)** Bilodeau & Lacasse, 2008; **(4)** Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007.

Envejecimiento Intrínseco	Envejecimiento Extrínseco
Arrugas finas ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	Arrugas profundas ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾
Pigmentación uniforme ⁽¹⁾⁽⁴⁾ (con lentigos mínimos) ⁽⁴⁾	Pigmentación irregular y desigual (pecas, lentigos, hipomelanosis en gotas) ⁽¹⁾⁽⁴⁾
Piel clara, casi transparente ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	Enrojecimiento, aspecto de piel curtida ⁽³⁾ y reducción en la luminiscencia del color de la piel (en comparación con áreas fotoprotegidas) ⁽¹⁾
Piel fina y suave ⁽⁴⁾	Piel engrosada, nodular, áspera ⁽⁴⁾
Adelgazamiento del tejido adiposo subcutáneo ⁽¹⁾⁽²⁾ con notoria pérdida de firmeza resultante ⁽¹⁾	Elasticidad disminuida y flacidez pronunciada ⁽¹⁾
Piel poco elástica y sobranete ⁽¹⁾⁽⁴⁾	Piel laxa ⁽³⁾
Sequedad ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾ y descamación ⁽⁴⁾	Sequedad ⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾ y descamación marcadas ⁽⁴⁾
Ocasionales Neoplasmas benignos (queratosis seborreicas, angiomas seniles) ⁽¹⁾⁽⁴⁾	Lesiones Neoplásicas más frecuentes (queratosis actínica, comedones seniles, carcinoma no melanoma de piel, lentigo maligno) ⁽¹⁾⁽⁴⁾
Lesiones vasculares menos frecuentes (telangiectasias y equimosis ocasionales) ⁽⁴⁾	Frecuentes lesiones vasculares (telangiectasias ⁽¹⁾⁽⁴⁾ , púrpura senil, lago venoso ⁽¹⁾ , equimosis ⁽⁴⁾)

Por otro lado, el envejecimiento cronológico también se ve afectado por factores intrínsecos entre los que se encuentran la etnicidad, los cambios hormonales y la

región anatómica en cuestión (Couturaud, 2009). La incidencia de la raza del individuo, se ve fundamentalmente reflejada en las diferencias existentes en cuanto a la pigmentación, en base a la cual se producirá una fotoprotección diferencial (Couturaud, 2009; Floréz-White, 2011). A su vez, se han determinado diferencias entre razas de ciertas propiedades biofísicas y biomecánicas de la piel (Couturaud, 2009).

Por otro lado, con el transcurso de los años ocurren una serie de cambios hormonales que ocasionan alteraciones en la piel. Particularmente, la deficiencia acumulada de estrógenos produce un retardo en la cicatrización de heridas y una reducción en la producción de colágeno (Ramos-e-Silva y Coelho da Silva Carneiro, 2007; Bilodeau & Lacasse, 2008; Lozada & Rueda, 2010); y la disminución de la hormona tiroidea, testosterona y estrógenos alteran la síntesis lipídica epidérmica (Farage et al, 2008; Floréz-White, 2011), produciendo de esta manera un disturbio en la función de barrera cutánea (Floréz-White, 2011).

Envejecimiento extrínseco

El envejecimiento extrínseco es causado por diversos factores externos. Entre estos, el fotodaño constituye el principal componente (Kappes, 2004; Watson & Griffiths, 2005), motivo por el cual, dicho proceso involutivo es habitualmente denominado Fotoenvejecimiento (Berneburg, Plettenberg & Krutmann, 2000). No obstante, otras influencias ambientales también contribuyen a la alteración de la textura y funcionalidad de la piel (Watson & Griffiths, 2005; Farage et al, 2008). Dichos factores extrínsecos incluyen: la polución, el tabaquismo, la mala nutrición, el alcoholismo, el estrés físico y/o psicológico (Fisher et al, 2002), la reiteración de ciertos movimientos musculares, y diversos aspectos del estilo de vida, tales como la posición al dormir y la salud en general (Farage et al, 2008).

El envejecimiento extrínseco constituye una aceleración del envejecimiento cronológico de las áreas fotoexpuestas de la piel (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007). Dichas áreas poseen características clínicas (Tabla 1), histológicas (Tabla 2) y funcionales (Tabla 3) distintivas, además de una evidente relación con el cáncer de piel (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007).

Tabla 2: Alteraciones a nivel histológico de la epidermis y dermis resultantes del Envejecimiento Intrínseco y Extrínseco. **SC:** Estrato córneo; **SE:** Estrato espinoso; **SG:** Estrato granuloso; **UDE:** Unión Dermoepidérmica. **(1)** Darlenski, Callaghan & Fluhr, 2011; **(2)** Zouboulis & Makrantonaki, 2011; **(3)** Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007.

Envejecimiento Intrínseco	Envejecimiento Extrínseco
Epidermis:	
Adelgazamiento de la epidermis entre un 10% y 50% ⁽²⁾	Engrosamiento de la epidermis ⁽²⁾
Disminución de la actividad mitótica, incremento en la duración del ciclo celular y en el tiempo de migración ⁽²⁾	Alteración en la proliferación, diferenciación, descamación y apoptosis de los queratinocitos ⁽²⁾
Atrofia del SE y aumento en la heterogeneidad de los tamaños de las células basales ⁽²⁾	Aumento en la compactación del SC y el grosor del SG ⁽¹⁾
Recambio de lípidos enlentecido ⁽²⁾	Reducción del contenido de mucopolisacáridos epidérmicos ⁽¹⁾
Aplanamiento de las crestas interpapilares a nivel de la UDE ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	Aplanamiento de las crestas interpapilares a nivel de la UDE ⁽¹⁾⁽²⁾ , reducción de las fibras de anclaje ⁽²⁾
Disminución moderada en la cantidad de células de Langerhans ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	Marcada disminución en el número y en la funcionalidad de las células de Langerhans ⁽³⁾
Disminución en la cantidad ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾ y funcionalidad de los melanocitos ⁽³⁾ con aumento de su heterogeneidad ⁽²⁾	Melanogénesis aumentada ⁽³⁾
Dermis:	
Zona de Grenz ausente ⁽³⁾	Zona Grenz prominente en la dermis papilar ⁽¹⁾
Atrofia con alteración del tejido conectivo ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	Fibroblastos de fenotipo estelar ⁽²⁾
Reducción y desintegración de las fibras colágenas y elásticas, con deposición de sustancias exógenas ⁽²⁾	Disminución de colágeno con aumento en su degradación, y deposición de material elastótico anormal ⁽¹⁾⁽²⁾
Disminución en el número de vasos sanguíneos dérmicos y acortamiento de las asas capilares ⁽¹⁾⁽²⁾	Dilatación vascular y aumento en la tortuosidad capilar ⁽¹⁾
Disminución de la cantidad de colágeno soluble y aumento del insoluble ⁽³⁾	Mayor cantidad de metaloproteinasas ⁽¹⁾⁽²⁾
Atrofia de la matriz extracelular ⁽²⁾	Disminución en la cantidad de glucosaminoglicanos ⁽¹⁾
Menor cantidad de fibroblastos ⁽¹⁾⁽²⁾ y mastocitos ⁽¹⁾	Aumento en el número de mastocitos y neutrófilos ⁽²⁾

Las características clínicas de este proceso involutivo dependerán de distintos factores como el tipo y el fototipo de piel, la naturaleza de la exposición solar (recreacional y/o ocupacional), el peinado o corte de pelo, la vestimenta utilizada y la capacidad individual de reparación ante el fotodaño (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007). Consiguientemente, por su naturaleza y definición, el envejecimiento extrínseco constituye un proceso que puede ser ampliamente evitado (Baumann, 2007).

La piel fotoexpuesta, como generalmente es el caso de la del cuello, escote, cara, antebrazos y manos, tal como se menciona anteriormente, se superpone a las alteraciones advertidas en el envejecimiento cronológico de la piel. No obstante, los cambios causados por la exposición solar pueden ocurrir incluso antes que los signos del envejecimiento cronológico (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007).

La exposición solar crónica tiene profundos efectos sobre la epidermis y la dermis. La luz ultravioleta penetra en la piel e interactúa con varias células localizadas a distintas profundidades dependiendo de la longitud de onda (Clarys & Barel, 2009). Las radiaciones de longitud de onda más corta (280-320 nm), correspondientes a la UVB, es absorbida en su mayoría en la epidermis y afecta principalmente a los queratinocitos. Contrariamente, los rayos UVA de mayor longitud de onda (320-400 nm) penetran más profundo y pueden interactuar tanto con los queratinocitos epidérmicos como con fibroblastos dérmicos (Berneburg, Plettenberg & Krutmann, 2000; Clarys & Barel, 2009; Floréz-White, 2011).

Ambos tipos de radiación ejercen efectos específicos sobre las células cutáneas. Los rayos UVA actúan sobre todo indirectamente mediante la generación de ERO, los cuales ejercen una gran variedad de efectos tales como la peroxidación lipídica, activación de factores de transcripción, inducción de las MMP, alteraciones en el ADN nuclear y mutaciones en el ADN mitocondrial (Zorrilla, 2002; Clarys & Barel, 2009; Floréz-White, 2011). Por otro lado, la luz UVB, si bien también es capaz de generar ERO, su acción principal reside en su interacción directa con el ADN (Clarys & Barel, 2009; Floréz-White, 2011), al cual le induce daño produciendo principalmente dímeros de pirimidina que eventualmente dan lugar a mutaciones por errores en la replicación del ADN (Floréz-White, 2011). Por consiguiente, la exposición solar crónica ocasionará

Tabla 3: Anomalías funciones resultantes del Envejecimiento Intrínseco y Extrínseco. **SC:** Estrato córneo. **(1)** Darlenski, Callaghan y Fluhr, 2011; **(2)** Zouboulis & Makrantonaki, 2011; **(3)** Bilodeau & Lacasse, 2008; **(4)** Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007; **(5)** Berneburg, Plettenberg & Krutmann, 2000.

Envejecimiento Intrínseco	Envejecimiento Extrínseco
Función de barrera epidérmica competente ⁽¹⁾ // Perturbación de la barrera cutánea ⁽²⁾	Función de barrera epidérmica competente ⁽¹⁾
Retardo en el proceso de recuperación tras una perturbación aguda en la barrera cutánea ⁽¹⁾	Sin diferencias en la función de barrera epidérmica con respecto a la piel con envejecimiento intrínseco ⁽¹⁾
Disminución en la hidratación del SC ⁽¹⁾	Reducción en la hidratación del SC en áreas fotoexpuestas vs. áreas fotoprotegidas ⁽¹⁾
Incremento en el pH de la superficie cutánea (sólo en algunas regiones anatómicas) ⁽¹⁾	Incremento en el pH de la superficie cutánea (sólo en algunas regiones anatómicas) ⁽¹⁾
Decremento en la elasticidad y extensión cutáneas, con aumento en la fatigación ⁽¹⁾	Menor capacidad de unión del SC con el agua en comparación con la piel con envejecimiento intrínseco ⁽¹⁾
Respuesta inmune reducida ⁽³⁾	Respuesta inmune reducida ⁽³⁾
Reducción en el número y funcionalidad de las glándulas sudoríparas ⁽⁴⁾	Marcada reducción en el número y funcionalidad de las glándulas sudoríparas ⁽⁴⁾
Aumento en el tamaño de las glándulas sebáceas pero con funcionalidad disminuida ⁽⁴⁾	Importante aumento del tamaño de las glándulas sebáceas pero con funcionalidad disminuida ⁽⁴⁾
Cicatrización enlentecida ⁽³⁾⁽²⁾	Capacidad de cicatrización deteriorada ⁽⁵⁾
Reducción de la respuesta vascular cutánea, alteración en la termorregulación y aporte de nutrientes ⁽²⁾	
Aislamiento y producción de energía disminuidos ⁽²⁾	
Función sensorial alterada ⁽²⁾	
Disminución de la superficie de contacto entre tejidos con mayor riesgo de separación y sensibilidad ante fuerzas deformantes ⁽²⁾	
Reducción de la fortaleza y resiliencia cutáneas ⁽²⁾	

principalmente el deterioro de la matriz extracelular (Watson & Griffiths, 2005), alteración de compuestos de distinta naturaleza química (Zorrilla, 2002) y daño en el material genético (Zorrilla, 2002; Clarys & Barel, 2009; Floréz-White, 2011).

Por último, cabe resaltar el hecho de que a pesar de que la piel posee defensas antioxidantes que neutralizan a las ERO, estos sistemas disminuyen su actividad a causa del paso del tiempo y de la exposición crónica a la RUV, dejando así una mayor cantidad de radicales libres (Dupont et al, 2010). Por consiguiente, existe una mayor probabilidad de que las especies radicalarias ejerzan su acción sobre sus moléculas blancas (Zorrilla, 2002), produciendo deterioros tanto a nivel celular como molecular (Dupont et al, 2010).

Análisis de ciertos aspectos fisiológicos y estructurales de la piel y su alteración en el envejecimiento cutáneo

La Barrera Cutánea y la Hidratación epidérmica

El estado de hidratación cutánea es reflejo del equilibrio entre los aportes de agua (endógena y exógena) y las pérdidas que se producen por evaporación (Fábregas & del Pozo, 2006). Por lo que, la hidratación cutánea dependerá principalmente de la capacidad de difusión y retención del agua del SC (Rawlings & Harding, 2004). El SC, al ser selectivamente permeable, una pequeña cantidad de agua logra difundir a través de él para hidratar las capas más superficiales de dicho estrado, manteniendo así su flexibilidad y propiciando las reacciones enzimáticas que conllevan a su maduración (Rawlings et al, 2002; Rawlings & Harding, 2004). Esa pequeña cantidad de agua que difunde a través de la piel hacia el exterior constituye la pérdida transepidérmica de agua (*Transepidermal Water Loss*, TEWL) (Oestmann, et al, 1993 citado por Levin & Maibach, 2009). Dicho parámetro es utilizado para la evaluación de la función de barrera cutánea, de manera que, un incremento en los valores de TEWL estaría reflejando un trastorno en dicha función de barrera (Nilsson, 1997 citado por Levin & Maibach, 2009).

El contenido acuoso de la epidermis es marcadamente alto en la epidermis viviente (70%), y disminuye bruscamente en la unión entre el estrato granuloso y el SC, adquiriendo valores entre el 15% y el 30%. Esta discontinuidad en el contenido acuoso, aísla al SC del cuerpo, ayudándole a conservar solutos importantes dentro de la

epidermis viable (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007). La presencia de este gradiente de agua en la parte inferior del SC permite la realización de funciones importantes a nivel de los queratinocitos, como lo es la proteólisis de la filagrina (Marcano & González, 2006; Verdier-Sévrain & Bonté, 2007; Tagami, 2008). Dicha disminución en el contenido acuoso ocurre paralelamente al aumento en la secreción de los lípidos del SC. Ambos procesos esenciales para la hidratación de la piel y la adecuada constitución de barrera de permeabilidad (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007).

La retención de agua en el SC depende de dos componentes principales: 1) la presencia de compuestos higroscópicos dentro de los corneocitos, entre los que principalmente se incluye al Factor Natural de Humedad (*Natural Moisturizing Factor*, NMF), y 2) los lípidos intercelulares del SC, que arreglados ordenadamente conforman una barrera contra la TEWL (Marcano & González, 2006; Verdier-Sévrain & Bonté, 2007; Levin & Maibach, 2009). Parte del contenido acuoso del SC, se encuentra ligado a ambos componentes y es proporcional a la humedad relativa del medio externo. La fracción restante, está unida a la queratina intercelular, y en condiciones no-patológicas normalmente no cambia (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007).

El NMF constituye una mezcla de moléculas higroscópicas que conservan la hidratación del corneocito, y por tanto del SC, gracias a su gran poder osmótico (Rawlings & Harding, 2004). Gran parte del NMF está representado por aminoácidos (40%), originados a partir de la proteólisis de la filagrina epidérmica (Rawlings & Harding, 2004; Marcano & González, 2006). La producción de los aminoácidos del NMF se encuentra influenciada por factores intrínsecos y extrínsecos (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007). Por ejemplo, la baja humedad (menos de 10% de humedad relativa) impide el correcto funcionamiento de las enzimas hidrolíticas, responsables de la generación de los aminoácidos que componen al NMF, promoviendo el consecuente resecamiento de la superficie cutánea (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007).

La función de barrera de permeabilidad, es decir, la capacidad de evitar la pérdida excesiva de agua y electrolitos, está mediada por los lípidos intercelulares del SC. Dichos lípidos corresponden a ceramidas (50%), ácidos grasos libres de cadena larga (10-20%), colesterol y sus ésteres (25%) (Marcano & González, 2006; Tagami, 2008). La

correcta distribución y organización de estos lípidos y el agua, describe una serie de membranas lamelares paralelas, que proveen una barrera íntegra y efectiva contra la TEWL excesiva (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007; Levin & Maibach, 2009). Los precursores de dichos lípidos derivan del contenido de los cuerpos lamelares (CL), el cual es secretado durante la interface de la capa granulosa y el estrato córneo (Boudier, et al, 2009).

Otro de los elementos implicados en la hidratación de la piel es la capa hidrolipídica que se encuentra sobre la superficie cutánea (Fábregas & del Pozo, 2006; Celleno & Tamburi, 2009). Este manto epicutáneo se asemeja a una emulsión y como tal, se compone por una fase oleosa (constituida por el sebo producido por las glándulas sebáceas y distintos lípidos procedentes del espacio intercorneocitario) y una fase acuosa (conformada por el agua proveniente del sudor) (Fábregas & del Pozo, 2006). Dicha emulsión, también protege a la piel frente a la pérdida masiva de agua, lo cual logra gracias la presencia de lípidos apolares quienes actúan como barrera impidiendo en gran medida el traspaso de moléculas de agua (Fábregas & del Pozo, 2006; Celleno & Tamburi, 2009). Su fase acuosa es capaz de mezclarse con agua exógena en función de la humedad relativa ambiental (Fábregas & del Pozo, 2006). A su vez, las características químicas de esta emulsión, le permiten, dentro de ciertos límites, proteger la piel frente a sustancias químicas dañinas y a la acción de microorganismos patógenos (Celleno & Tamburi, 2009).

Las diferencias existentes en la distribución y/o densidad del sudor y las glándulas sebáceas, hace que no todas las áreas de la superficie cutánea estén cubiertas equitativamente por el manto hidrolipídico (Celleno & Tamburi, 2009). Aquellas regiones que se encuentren pobremente cubiertas por este, tendrán una menor emoliencia natural, por lo que retendrán menos agua y consecuentemente, tendrán una mayor tendencia a la desecación. Por consiguiente, este manto constituye una cobertura protectora indispensable para mantener la piel en buenas condiciones, permitiéndole llevar a cabo sus funciones correctamente (Celleno & Tamburi, 2009).

A su vez, la Dermis constituye un gran reservorio de agua *per se*. Esto se debe a la presencia de glucosaminoglicanos en la matriz extracelular, los cuales forman enlaces

covalentes con moléculas de agua y dotan de turgencia a la piel (Fábregas & del Pozo, 2006). Por otro lado, se encuentra el agua libre que difunde desde los vasos sanguíneos hacia la dermis, parte de la cual podrá evaporarse tras difundir a través de la epidermis (Fábregas & del Pozo, 2006).

El envejecimiento intrínseco así como el extrínseco producen variaciones funcionales del SC (Tagami, 2008). Entre estas modificaciones, se encuentran la pérdida del material higroscópico y la reducción del contenido lipídico, las cuales consecuentemente impiden la correcta difusión y retención de agua, haciendo que las capas superficiales de la piel se deshidraten (Dupont et al, 2010). Por consiguiente, se produce una alteración de las propiedades estructurales y mecánicas de la piel, causando resquebrajamiento del SC, reducción de la flexibilidad cutánea y propiciando la formación de arrugas (Dupont et al, 2010).

En particular, la cantidad de lípidos en superficie es significativamente menor en la piel envejecida (Tagami, 2008). Esto se debe a que como el sebo representa alrededor del 95% de los lípidos de la piel, la reducción en su secreción causada por una disminución en la síntesis de hormonas androgénicas que desencadenada en el envejecimiento, producirá un decremento en los niveles de lípidos de la superficie cutánea (Celleno & Tamburi, 2009). Simultáneamente, es sabido que los individuos de edad avanzada se caracterizan por tener una secreción sudorípara reducida (Dufour & Candas, 2007). La reducción global de los lípidos del estrato córneo en conjunción con una sudoración reducida, producirá como consecuencia, una menor cantidad de manto hidrolipídico, lo cual contribuye con la deshidratación cutánea (Shai, Maibach & Baran, 2009).

En cuanto a las variaciones que pueda sufrir la función de barrera cutánea, existen observaciones contrapuestas. Están aquellos que apoyan el hecho de que el efecto sinérgico del envejecimiento intrínseco y el extrínseco a lo largo de la vida del individuo generan un deterioro de la barrera cutánea (Friedman, 2005; Zouboulis & Makrantonaki, 2011), y quienes sostienen que la TEWL tiende a ser menor en individuos mayores debido a que poseen una mejor función de barrera (Berardesca & Maibach, 1990; Cua, Wilhelm & Maibach, 1990; Kobayashi & Tagami, 2004 citados por Tagami, 2008). Los primeros establecen que con el tiempo, la epidermis desarrolla una

anormalidad en la homeostasis de barrera de permeabilidad (Elias & Ghadially, 2002 citado por Zouboulis & Makrantonaki, 2011), lo cual puede resultar de la reducción global de los lípidos del estrato córneo (Zouboulis & Makrantonaki, 2011). A su vez, el decline de la función de barrera cutánea consecuente, estaría también exacerbando la pérdida de NMF que se produce generalmente con la edad (Ghadially et al, 1995). En contraposición con esta teoría, existen estudios que han detectado que pese a disminución en los lípidos del SC, la absorción percutánea de sustancias aplicadas tópicamente es menor en la piel envejecida que en la piel de una persona de mediana edad (Levin & Maibach, 2009). Dicho escenario sería un indicio de que la función de barrera cutánea no se deteriora con el paso del tiempo (Tagami, 2008). Esto parece deberse a que la deshidratación en conjunción con el envejecimiento cutáneo generan un SC considerablemente más grueso y con una mayor cohesión interconeocitaria. Dichas modificaciones tendrían la finalidad de contrarrestar la falta de dichos compuestos (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007; Tagami, 2008) al incrementar la longitud de difusión y generar un pasaje más tortuoso para traspaso de las moléculas de agua (Rawlings & Harding, 2004).

La Matriz extracelular (MEC) dérmica

En el tejido dérmico, la MEC está representada por un gel viscoso de macromoléculas muy hidratadas denominado sustancia fundamental, con fibras embebidas en ella. Estas últimas otorgan resistencia tensil y elasticidad al tejido, además de conformar un andamiaje sobre el cual asientan las células del mismo (Naranjo, Noguera-Salvá & Fariñas Guerrero, 2009). Dichas macromoléculas se encuentran tradicionalmente representadas por tres tipos de fibras: colágenas, elásticas y reticulares. La sustancia fundamental se compone principalmente de proteoglicanos (PG), glucoproteínas (GP) y glucosaminoglicanos (GAG), siendo los principales entre estos últimos: el ácido hialurónico, dermatánsulfato, queratánsulfato, condroitínsulfato y el heparánsulfato (Naranjo, Noguera-Salvá & Fariñas Guerrero, 2009). Los elementos de la sustancia fundamental se organizan a modo de una red tridimensional que actuará como filtro biofísico de adhesión oponiéndose a las fuerzas de compresión, y a su vez, caracterizarán a las entidades responsables de la hidratación del tejido (Naranjo, Noguera-Salvá & Fariñas Guerrero, 2009).

El adecuado mantenimiento de la MEC resulta de un delicado balance entre la producción y la degradación de sus componentes (Silvera & Barrios, 2002). Desafortunadamente, ambos mecanismos se ven alterados con la involución cutánea, y amplificados a causa de la exposición UV, humo de cigarrillo y la polución urbana (Dupont et al, 2010). De hecho, la dermis de la piel involutiva contiene un menor número de fibroblastos, y la capacidad de dichas células de producir fibras de colágeno y elastina se encuentra también disminuida (Sephel & Davidson, 1986; Varani et al, 2006). A su vez, el transcurso de los años induce un incremento en la fragmentación de ambas fibras mediante la activación de enzimas específicas: las metaloproteinasas (MMP), que degradan las fibras de colágeno, y las elastasas neutrofilicas que fragmentan las elásticas (Antonicelli et al, 2007; Fisher, Varani & Voorhees, 2008). Por lo tanto, podría establecerse que durante la senescencia los fibroblastos dérmicos adquieren un fenotipo matriz-degradante, en donde la expresión de las MMP aumenta y la de los inhibidores de dichas enzimas disminuye (TIMP-1 y TIMP-3) (Schmid, Muggli & Züllig, 2001). Consecuentemente, ocurre la fragmentación de dicha red tridimensional, lo cuál tendrá profundas repercusiones fisiológicas sobre la piel (Dupont et al, 2010). Entre estas implicancias, se encuentra la pérdida de adherencia de los fibroblastos a los fragmentos de colágeno, lo cual priva a dichas células de la tensión mecánica requerida para mantener una eficiente síntesis de colágeno. Consiguientemente, estos fibroblastos colapsados inducen la producción de altos niveles de MMP, promoviendo así la auto perpetuación de este proceso (Dupont et al, 2010).

A su vez, con el paso del tiempo, el colágeno en sí mismo sufre una serie de alteraciones. En la piel envejecida, no solamente la tasa de síntesis de colágeno disminuye, sino que la actividad de las enzimas encargadas de las modificaciones post-traslacionales de dichas fibras se observa también reducida (Calleja-Agius, Muscat-Baron & Brincat, 2007). Asimismo, se produce un decremento en la solubilidad y un aumento en el grosor de los haces de fibras colágenas (Uitto, 1989; Gniadecka et al, 1994 citados por Waller & Maibach, 2006; Calleja-Agius, Muscat-Baron & Brincat, 2007). Esto se debe parcialmente a la formación progresiva de puentes transversales ocurrida con el envejecimiento, lo cual resulta en una tendencia por parte de las

moléculas de colágeno a agruparse en otras más grandes, conduciendo así a una pérdida en su solubilidad (Castelo-Branco et al, 2005). De esta forma, teniendo en cuenta que el colágeno es el principal responsable de la fuerza de tensión cutánea (Waller & Maibach, 2006), las alteraciones que dicha molécula sobrelleva como consecuencia del envejecimiento, se encuentran en estrecha relación con la asociación de este proceso a un incremento progresivo en la extensibilidad y una reducción en la elasticidad cutánea (Brincat, Baron & Galea, 2005; Calleja-Agius, Muscat-Baron & Brincat, 2007).

La elastina por su parte, también padece numerosas alteraciones con el transcurso del tiempo. Entre estas, se incluye el enlentecimiento en la degradación e incremento de su síntesis, lo cual resulta en la acumulación masiva de material elastótico, en especial en la piel fotoenvejecida (Waller & Maibach, 2006). Por otro lado, si bien se sintetiza elastina en mayor medida, dicha fibra posee una estructura anormal, lo cual impide su correcto funcionamiento (Ritz-Timme & Collins, 2002).

Los GAG constituyen elementos de suma importancia para los tejidos puesto que son capaces de unirse a un volumen de agua hasta 1000 veces mayor al propio (Waller & Maibach, 2006; Bauman, 2007). Por ende, la hidratación cutánea se encuentra en relación estrecha con el contenido y la distribución de los GAG dérmicos (Waller & Maibach, 2006; Naranjo, Noguera-Salvá & Fariñas Guerrero, 2009). Dichos elementos también presentan variaciones como consecuencia del paso del tiempo (Castelo-Branco et al, 2005; Waller & Maibach, 2006). Ciertos estudios sugieren que la cantidad de GAGs, en particular de HA, se ve reducida en la piel fotoenvejecida (Waller & Maibach, 2006). Contrariamente, otros estudios reportan ausencia de variaciones en el nivel de GAGs de la piel involutiva (Bauman, 2007). En cuanto a la piel que ha envejecido intrínsecamente, se ha reportado que la cantidad de HA en la dermis permanece estable, pese a que la cantidad de HA epidérmica disminuye casi completamente (Bauman, 2007). No obstante, otros estudios establecen que la cantidad de GAGs parece aumentar en la piel fotoenvejecida en comparación con la cronológicamente envejecida (Waller & Maibach, 2006). Pese a esto, dichos GAGs se ubicarían anormalmente entre el material elastótico de la dermis superficial, lo cual les

impediría interactuar con el agua de la misma forma que si estuviesen apropiadamente dispersos por toda la dermis (Waller & Maibach, 2006).

Teniendo en cuenta que, los GAG se encuentran estrechamente asociados con el colágeno cutáneo y que el estado de hidratación de la dermis se ve fuertemente influenciado por los GAG, una disminución en las concentraciones de dichos elementos ocasionaría, junto con otros agentes causales, la apariencia seca, flácida y arrugada de la piel envejecida (Castelo-Branco et al, 2005).

Propiedades mecánicas de la piel

Las propiedades mecánicas de la piel son la expresión funcional de la naturaleza bioquímica de sus componentes y la organización estructural tanto a nivel supramolecular y microanatómico (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004). Por tanto, las modificaciones a nivel de la red tridimensional de la MEC o en cualquiera de sus componentes, contribuirán potencialmente con el desarrollo del envejecimiento cutáneo. Fundamentalmente, esto es debido a que dichas modificaciones representan los factores causales de los cambios físicos que superficialmente se traducen en la aparición y agravación de los signos clínicos del envejecimiento (Castelo-Branco et al, 2005; Dupont et al, 2010).

En general, para la mayoría de las regiones corporales, la gran parte de las funciones tensoras es aportada por la dermis reticular y la hipodermis, con una contribución más discreta de la dermis papilar y la epidermis (Piérard, 1999). Para cada capa, tanto el grosor como su estructura íntima juegan un rol fundamental en dicho aporte (Piérard, 1999). Sin embargo, ninguna de las funciones tensoras puede ser adjudicada exclusivamente a solo una de estas variables debido a la íntima interconexión existente entre dichas capas y los elementos que las componen (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004).

Las funciones mecánicas de la piel resultan sumamente complejas de evaluar y difíciles de interpretar. Esto es debido mayormente a la composición estructural de los tejidos cuyas funciones fisiológicas dependen de 2 factores sustanciales (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004). En primer lugar, y tal como se menciona anteriormente, se

encuentra la mutua interdependencia existente entre los elementos constituyentes de la piel, la cual hace prácticamente imposible atribuir una respuesta mecánica global a una estructura biológica específica (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004). Consecuentemente, los testeos realizados en humanos evalúan generalmente las cuatro capas, ya que dicha interconexión impide el aislamiento de cada capa por separado. La influencia de cada una de estas capas sobre cierta propiedad mecánica estimada por un aparato de medida, va a depender de las dimensiones de la región corporal efectivamente testada por dicho instrumento (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004). En segundo lugar, se advierte que la típica respuesta mecánica de cada componente macromolecular, es variable dentro de un amplio rango de intensidad de fuerza (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004).

Si bien a evaluación de las propiedades tensoras de la piel constituyen un reto considerable, la valoración de las mismas ayudan a establecer la verdadera condición de la piel y hasta qué punto la aplicación tópica de una sustancia o un tratamiento son capaces de mantener o restaurar la función cutánea normal (Rodrigues, 2001; Cal, Zakowiecki & Stefanowska, 2010).

Las modificaciones de las propiedades mecánicas cutáneas pueden ser evaluadas mediante distintas metodologías. Entre estas, una de las más comunes es aquella basada en la cámara de succión, dentro de la cual se crea una presión negativa que atrae a la piel por la abertura del aparato (Darlenski, Callaghan & Fluhr, 2011).

Arrugas: formación y un ejemplo para su ponderación

La aparición de ciertos signos, entre los que se encuentran la flacidez de los tejidos blandos y las arrugas, pueden ser explicados debido a ciertos cambios regresivos que afectan la piel al envejecer (Castelo-Branco et al, 2005). En particular, las arrugas cutáneas constituyen la expresión clínica más fehaciente del envejecimiento cutáneo (Rona, Vailati & Berardesca, 2004). Las mismas, son producto de un proceso dinámico en el que intervienen tanto el envejecimiento cronológico como el fotoenvejecimiento (Rona, Vailati & Berardesca, 2004). Entre los agentes causales encontramos: el adelgazamiento de la UDE, la pérdida de colágeno, GAG y tejido adiposo subcutáneo (Rona, Vailati & Berardesca, 2004), la degeneración elástica y el engrosamiento

epidérmico (Castelo-Branco et al, 2005). Por otro lado, existe una serie de factores internos y externos capaces de agravar las condiciones normales de la piel envejecida (Rona, Vailati & Berardesca, 2004). Como ejemplo de los primeros, se aprecian los cambios hormonales, propios del envejecimiento fundamentalmente femenino, la presencia de elementos raciales y genéticos, el estrés oxidativo y el posible padecimiento de enfermedades sistémicas (Rona, Vailati & Berardesca, 2004). Los factores extrínsecos se ven representados por elementos climáticos, como la temperatura y humedad, la polución ambiental y la práctica de ciertos vicios como el tabaco y el alcohol (Rona, Vailati & Berardesca, 2004). Por otro lado, se cree que la intervención de la gravedad y los movimientos musculares o articulares tienen un rol fundamental en la formación de dichas arrugas (Rona, Vailati & Berardesca, 2004; Carruthers, et al, 2008a). De hecho, Bilodeau & Lacasse (2008) establecen que “las arrugas se forman cuando una fuerza es aplicada sobre un material rígido y delgado (epidermis) que yace sobre una base más gruesa y blanda (dermis)”. Dichas fuerzas son constantemente aplicadas en nuestra piel a lo largo de la vida del individuo. No obstante, siempre y cuando la extensibilidad y elasticidad de la piel se encuentren en estado óptimo, y mientras que exista una buena cohesión entre la epidermis y la dermis, las arrugas momentáneas resultantes de las expresiones faciales podrán atenuarse disipando la fuerza aplicada (Bilodeau & Lacasse, 2008). Sin embargo, el paso del tiempo junto con la acumulación de una serie de alteraciones que afectan tanto las propiedades estructurales como mecánicas (Bilodeau & Lacasse, 2008), promoviendo el establecimiento de arrugas permanentes y la pérdida de tonicidad (Fisher, 2005). Por tal motivo, y teniendo en cuenta la influencia de la estructura y distribución de los componentes de la piel, el actuar sobre los elementos constituyentes de la estructura cutánea para reforzar las propiedades mecánicas, constituye una buena estrategia para disminuir las arrugas (Bilodeau & Lacasse, 2008).

Por otro lado, a pesar de que el modo en que cada individuo envejece puede ser muy impredecible, existe una secuencia de cambios que parecen adherirse a un patrón progresivo básico a través del tiempo. Por tal motivo, resulta factible que ciertas etapas de la adultez abarquen una mayor magnitud de cambios asociados al envejecimiento que otras (Albert, Ricanek & Patterson, 2007). A su vez, el estudio de

los cambios anatómicos implicados en el envejecimiento facial revela que la formación de arrugas avanza progresivamente en relación a la edad de la persona (Friedman, 2005; Albert, Ricanek & Patterson, 2007). Dichos cambios comienzan a evidenciarse fehacientemente durante la cuarta década de vida (a partir de los 30 años) (Friedman, 2005). En este momento, empieza a observarse una mayor laxitud en los párpados, pseudoherniación del tejido adiposo orbital, formación de las líneas del ceño por debilitamiento del septum orbital y los pliegues nasolabiales se hacen evidentes (Friedman, 2005). A partir de los 40 años, las líneas de la frente se hacen más profundas, las patas de gallo son perceptibles y se forman los pliegues peribucales (Friedman, 2005). Diez años más tarde, las arrugas de la región perioral se hacen más evidentes, el canto lateral del ojo se debilita adquiriendo una inclinación descendiente, las arrugas de la frente se hacen más profundas y se vuelven notorias, aun cuando el rostro está en reposo. Asimismo, las estructuras de la región facial media descienden notoriamente, resultando en un empeoramiento de los pliegues nasolabiales (Friedman, 2005).

La literatura científica observa una severa carencia de herramientas estandarizadas para la ponderación de los signos del envejecimiento, pese a que una gran cantidad de metodologías han sido publicadas (Carruthers & Carruthers, 2010).

A su vez, el creciente interés de la sociedad por los procedimientos cosméticos, ha creado la necesidad de desarrollar escalas que sean capaces de medir el grado de envejecimiento y la severidad de las arrugas faciales (Day et al, 2004; Carruthers & Carruthers, 2010). En lo que respecta a dichos procedimientos, una de las medidas más importantes es la satisfacción de los pacientes (Day et al, 2004). Sin embargo, la gran variabilidad de percepciones y pretensiones que estos puedan tener sobre los resultados obtenidos, en conjunción con la falta de objetivos pre-establecidos y estandarizados para estos tratamientos, conduce a que cualquier evaluación de los resultados por parte del paciente, será indefectiblemente subjetiva (Most, Alsarraf & Larrabee, 2002). Por tanto, la fehaciente necesidad de realizar una apreciación basada en evidencia al evaluar la efectividad de los procedimientos cosméticos, exige que la valoración de la satisfacción del paciente, se complemente con metodologías más objetivas y cuantitativas (Luce, 1999). Por consiguiente, la evaluación de los signos

estéticos del envejecimiento deberá llevarse a cabo mediante una técnica estandarizada, objetiva y validada, que permita una categorización de dichos signos (Carruthers & Carruthers, 2010).

De hecho, actualmente existen un conjunto de escalas basadas en un sistema foto-numérico que permiten ponderar las líneas de la frente (Carruthers, et al, 2008b), las llamadas “líneas de marioneta” (Carruthers, et al, 2008c), el pliegue naso-labial (Day et al, 2004) y las “patas de gallo” (Carruthers, et al, 2008a). Dichas escalas pueden ser utilizadas en ensayos clínicos para evaluar los resultados de los tratamientos cosméticos y el nivel de mejora que resulte de estos (Day et al, 2004; Carruthers & Carruthers, 2010). Cada una de estas se compone de una escala de 5 imágenes representativas, en donde los caracteres anatómicos específicos del aspecto a evaluarse fueron incorporados en cada fotografía de manera progresiva, en base a lo cual, se le adjudica a cada una de estas un valor del 0 al 4 (Day et al, 2004; Carruthers & Carruthers, 2010). Las escalas fueron valoradas y validadas por un comité internacional especialistas involucrados en la medicina estética (Carruthers, et al, 2008a; 2008b; 2008c; Carruthers & Carruthers, 2010) o conducidas de acuerdo con el “International Conference on Harmonization Guidelines for Good Clinical Practice” (Day et al, 2004).

Tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo: sus motivos y requerimientos

A medida que la expectativa de vida aumenta y la gente envejece, la presión social por mantener una apariencia joven ha llevado al rápido desarrollo de procedimientos rejuvenecedores (Zouboulis & Makrantonaki, 2011). Por otro lado, es sabido que si bien los cambios estéticos producto del envejecimiento no amenazan directamente el bienestar del individuo, pueden provocar un fuerte impacto psicológico, principalmente en relación a la autopercepción, autoestima y calidad de vida de la persona (Koblenzer, 1996 citado por Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007). Por tanto, al ser uno de los primeros órganos en reflejar los signos del envejecimiento, el correcto mantenimiento de la piel y la mejora de su calidad, han ganado una particular atención en la sociedad (Zouboulis & Makrantonaki, 2011). De hecho, a

pesar de que hasta el momento no existen ingredientes o tratamientos tópicos que eliminen completa y definitivamente todas las manifestaciones clínicas del envejecimiento (Clarys & Barel, 2009), ciertamente, las innovaciones cosméticas resultantes de la investigación científica están progresando rápidamente (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007). Dichas innovaciones actualmente permiten a los pacientes reducir visiblemente o enlentecer la aparición de los síntomas involutivos mediante la práctica de cuidados preventivos y la utilización de los tratamientos químicos disponibles (Ramos-e-Silva & Coelho da Silva Carneiro, 2007; Clarys & Barel, 2009).

Al momento de diseñar productos cosméticos, para que estos posean los máximos beneficios anti-edad, deberán tenerse en cuenta tanto las alteraciones resultantes del proceso de envejecimiento intrínseco así como del extrínseco (Von Oppen-Bezalel, 2009). Idealmente, dichos productos no deberían dañar la salud de la piel al ser aplicado en condiciones normales o razonablemente predecibles de uso. A su vez, deberán existir pruebas sobre las alegaciones acerca su efecto sobre la piel (Dobrev, 2011). Para lograr esto, los ingredientes activos de los cosméticos y el producto final, deberán ser testeados para la evaluación y comprobación de la seguridad, compatibilidad y eficacia (Dupont et al, 2010; Dobrev, 2011). Las evaluaciones sobre la seguridad, incluyen el testeo en voluntarios humanos, la cual deberá ser precedida por evaluaciones en animales o in vitro. Por su parte, la eficacia de estos productos deberá ser testada únicamente cuando exista evidencia de que este no causa respuestas adversas a nivel local o sistémico (Rogiers et al, 1999 citado por Dobrev, 2011).

El gran desarrollo de esta industria, ha provocado que en la actualidad exista una amplia variedad de productos cosméticos creados con la finalidad de atenuar las distintas manifestaciones clínicas de la involución cutánea (Draelos, 2007). Entre estos se encuentra la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay), la cual gracias a las propiedades ya conocidas de los activos contenidos en su formulación, se considera que podrá mejorar ciertas manifestaciones clínicas del envejecimiento.

La Crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) como ejemplo de formulación anti-age

La crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) fue formulada con la finalidad de atenuar manifestaciones de la involución cutánea y otorgar una hidratación profunda (Kaplanski: comunicación personal).

Entre los activos contenidos en dicha formulación (Tabla 4), se encuentra el producto Trylagen® (Lipotec® S.A., Barcelona, España). Este producto constituye una combinación de péptidos y proteínas capaces de restaurar eficientemente los niveles de colágeno existentes tanto en pieles jóvenes como maduras (Lipotec® S.A., 2009a; 2009c). Gracias a las propiedades de los activos que lo componen, Trylagen® constituye un tratamiento integral del colágeno, ya que su actividad abarca 3 funciones cruciales: estimula la síntesis del colágeno I, III y IV, controla la uniformidad de las dimensiones y el espaciado de las fibrillas, lo cual promueve una correcta organización de la red colágena, e inhibe la degradación del colágeno y la glicación característica de la piel involutiva (Lipotec® S.A., 2009a; 2009c).

La estimulación de la síntesis colágena, es proporcionada por los siguientes ingredientes: *Pseudoalteromonas ferment extract*, *Hydrolyzed wheat protein* y *Hydrolyzed soy protein* (Lipotec® S.A., 2009a). En particular, ensayos realizados sobre piel humana reconstituida, demostraron que al ser tratada con una dosis de 0,00125% La protección del colágeno por parte de Trylagen® está dada simultáneamente por una inhibición de las MMP-2 y MMP-3, y de la glicación de la enzima Superóxido Dismutasa (SOD) (Lipotec® S.A., 2009a). La inhibición de la glicación de la SOD la proporciona el *Tripeptide-1* (Glycyl-L-Histidyl-L-Lysine, o GHK). Dicho tripéptido posee también una respuesta anti-inflamatoria y antioxidante, además de la propiedad de regular la síntesis colágena así como la producción de la elastina, proteoglicanos y glucosaminoglicanos, entre otras (Simeon et al, 2000a; Simeon et al, 2000b; Gorouhi & Maibach, 2009).

El efecto inhibidor del *Tripeptide-1* se evaluó utilizando la reacción de la SOD con la fructosa como modelo de glicación. En dicha evaluación se obtuvo, con concentraciones de 0,001% de *Tripeptide-1*, un incremento del 39,4% en la actividad

de dicha enzima con respecto a los controles, lo cual indicaría que dicho péptido logró inhibir parte de la glicación de esta enzima (Lipotec[®] S.A., 2009a).

Por otra parte, se realizaron estudios moleculares para medir la actividad de la collagenasa mediante técnicas de fluorescencia. Estos estudios revelaron que, la aplicación de una mezcla de *Hydrolyzed Wheat Protein* e *Hydrolyzed Soy Protein* a muestras de colágeno marcado con fluoresceína, produjo un 13,8% de inhibición de dicha enzima con respecto al control (Lipotec[®] S.A., 2009a).

Para evaluar la selectividad de Trylagen[®] con respecto a las MMPs humanas MMP-2 y MMP-3, se monitoreó la fluorescencia emitida al digerir colágeno con las MMPs. Se observó que una dosis de 5% de Trylagen[®] alcanzó a inhibir la MMP-2 en un 73,9% y la MMP-3 en un 56,6% (Lipotec[®] S.A., 2009a).

La eficacia de Trylagen[®] como producto anti-arrugas también fue evaluada en 20 mujeres entre 35 y 55 años, quienes aplicaron dos veces por día una crema con 5% de Trylagen[®] en el contorno de uno de sus ojos y una crema control en el otro, durante 30 días (Lipotec[®] S.A., 2009b). La profundidad de las arrugas, evaluada con el sistema PRIMOS 3D (Canfield Scientific Inc[®], Fairfield, USA), disminuyó un 28,94% luego de 30 días de uso (Lipotec[®] S.A., 2009a; 2009c). El mismo estudio fue realizado con una crema conteniendo 1% de Trylagen[®] en mujeres entre 35 y 60 años, obteniéndose un 5% de disminución en la profundidad de las arrugas a los 30 días de uso (Lipotec[®] S.A., 2009a).

La hidratación profunda, está dada por el producto Hygroplex HHG[®] (CLR -Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH[®], Berlín, Alemania). Desarrollado con la finalidad de restituir la capacidad retención de agua de la piel a un nivel fisiológico normal, dicho producto se compone de: *Hexylene Glycol, Fructose, Glucose, Sucrose, Urea, Dextrin, Alanine, Glutamic Acid, Aspartic Acid* y *Hexyl Nicotinate* (CLR Group, 2007). Hygroplex HHG[®] constituye un hidratante cutáneo “fisiológico”, ya que su composición es similar a la NMF y por tanto, protege a la piel de la pérdida de humedad y reemplaza los componentes del NMF que se fueron perdiendo (CLR Group, 2007). A su vez, Hygroplex HHG[®] es capaz de retener la misma cantidad de agua que la piel, por lo que se adapta a sus características fisiológicas (CLR Group, 2007), proporcionando además

Tabla 4: Componentes activos de la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) denominados según el International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI) y las propiedades adjudicadas a estos. **(1)** <<http://www.ewg.org/skindeep/>>; **(2)** <<http://www.cosmeticsinfo.org/glossary.php>>; **(3)** Perez, Oncins & Garcia Anton, 2011; **(4)** Zhang & Falla, 2009; **(5)** Puig, García Antón & Mangues, 2007; **(6)** Lipotec S.A.®, 2009a; **(7)** Gorouhi & Maibach, 2009; **(8)** Desmarchelier et al, 1998; **(9)** Morquio, Rivera-Megret & Dajas, 2005.

Ingrediente (INCI)	Propiedades
Pseudoalteromonas ferment extract	Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Aumenta el contenido acuoso de las capas superficiales empleando la humedad del aire circundante ⁽¹⁾ , Estimula la síntesis de colágeno tipo I y IV ⁽⁶⁾
Hydrolyzed wheat protein	Generador de película ⁽¹⁾ , Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾ , Antiestático ⁽¹⁾ , Estimula la síntesis de colágeno tipo III ⁽⁶⁾
Hydrolyzed soy protein	Agente acondicionador de la piel ^(1, 2) , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾ , Antiestático ⁽¹⁾ , Humectante ⁽¹⁾ , Estimula la síntesis de colágeno tipo III ⁽⁶⁾
Tripeptide-10 citrulline	Regula la fibrillogénesis del colágeno e influencia el diámetro y deposición de las fibras colágenas ^(4, 5, 6, 7)
Tripeptide-1	Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾ , Impide la glicación de la SOD ^(3, 6)
Hexylene glycol	Disminuye la viscosidad ^(1, 2) , Emulsionante ⁽¹⁾ , Perfuma ⁽¹⁾ , Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Surfactante ⁽¹⁾ , Solvente ⁽²⁾
Fructose	Agente acondicionador de la piel ⁽²⁾ , Aumenta el contenido acuoso de las capas superficiales empleando la humedad del aire circundante ⁽²⁾
Glucose	Agente acondicionador de la piel ⁽²⁾ , Aumenta el contenido acuoso de las capas superficiales empleando la humedad del aire circundante ⁽²⁾ , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽²⁾
Sucrose	Humectante ⁽²⁾
Urea	Aumenta el contenido acuoso de las capas superficiales ⁽²⁾
Alanine	Perfuma ⁽¹⁾ , Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾ , Antiestático ⁽¹⁾ , Enmascarador ⁽¹⁾
Glutamic acid	Agente acondicionador de la piel ⁽²⁾ , Aumenta el contenido acuoso de las capas superficiales empleando la humedad del aire circundante ⁽²⁾
Hexyl nicotinate	Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Mejora la apariencia de la piel seca al reducirla descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾ , Antiestático ⁽¹⁾ , Emoliente ⁽¹⁾
<i>Achyrocline satureioides</i> extract	Capacidad antioxidante ⁽⁸⁾ y fotoprotectora ⁽⁹⁾
Phospholipids	Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾ , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾
Cholesterol	Agente acondicionador de la piel ^(1, 2) , Mejora la apariencia de la piel seca al reducirla descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ⁽¹⁾ , Estabiliza emulsiones ⁽¹⁾ , Emoliente ⁽¹⁾ , Emulsionante ⁽¹⁾ , Viscosante ^(1, 2)
Elastin hydrolyzed	Agente acondicionador de la piel ⁽¹⁾
Allantoin	Agente acondicionador de la piel ^(1, 2) , Mejora la apariencia de la piel seca al reducir la descamación y devolverle la flexibilidad a la piel ^(1, 2) , Protege ^(1, 2) y suaviza ⁽¹⁾ la piel

elasticidad y flexibilidad a la misma (http://www.clr-berlin.com/index.php?article_id=12&clang=3&selection=1&product=17).

A diferencia de otros hidratantes, Hygroplex HHG® no produce deshidratación ante condiciones de baja humedad atmosférica. Esto es debido a que dicho producto contiene una sustancia hiperemiante, por lo que promueve el flujo sanguíneo local, lo cual es crucial para una buena hidratación cutánea (CLR Group, 2007).

En base a lo estipulado anteriormente, este producto resulta adecuado para la aplicación sobre pieles secas, que se han deshidratado debido al envejecimiento o a influencias externas, volviéndose ásperas y arrugadas (CLR Group, 2007).

Otro de los ingredientes de la crema GR 98010, es el extracto encapsulado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (Compositae). Esta planta es una hierba aromática anual autóctona de Sudamérica, en donde es generalmente conocida como “Marcela” (Cosentino, et al 2008). Durante las últimas décadas, importantes investigaciones científicas sobre *A. satureioides* (AS) han aportado evidencia experimental acerca de sus propiedades antioxidantes, como captor de radicales libres (Desmarchelier, Coussio & Ciccía, 1998), y sobre su capacidad fotoprotectora (Morquio, Rivera-Megret & Dajas, 2005), entre otras (Cosentino, et al 2008). Dichas propiedades son atribuibles en su mayoría al contenido de flavonoides que AS posee (Morquio, Rivera-Megret & Dajas, 2005). De hecho, su análisis cromatográfico revela que los flavonoides más abundantes contenidos en la infusión de dicha planta son la quercetina, luteolina y 3-O-metilquercetina (Arredondo, et al, 2004), los cuales se encuentran mayormente en la forma libre como agliconas flavonoides (Wollenweber & Dietz; 1981), aunque también pueden encontrarse glicosidados. En efecto, la capacidad oxidativa ciertos compuestos polifenólicos tales como las agliconas flavonoides de la AS, pueden resultar beneficiosos para contrarrestar el fotodaño de la piel (Morquio, Rivera-Megret & Dajas, 2005). En particular, se ha demostrado que la propiedad fotoprotectora dada por la aplicación tópica de AS sobre la piel de conejo, no es debido a la absorción de radiación ultravioleta (RUV) sino a su capacidad de capturar radicales libres. Por consiguiente, cabe considerar que la aplicación tópica de AS disminuye significativamente la producción de radicales libres debido a la irradiación RUV en la

piel de conejo (Morquio, Rivera-Megret & Dajas, 2005). A su vez, la aplicación tópica de dichos compuestos evita la ocurrencia de importantes cambios metabólicos que los flavonoides sufren al ser administrados vía oral o sistémica. De esta forma, los agliconas flavonoides tienen una mayor oportunidad de interactuar directamente con las células de la piel, mientras que los flavonoides glicosidados tienen menos acceso al compartimiento intracelular (Morquio, Rivera-Megret & Dajas, 2005).

El extracto hidro-alcóhólico de *A. satureioides* se encuentra encapsulado en liposomas ultradeformables (LUD), los cuales permiten una liberación más controlada de la droga o fármaco (Rajan et al, 2011).

Denominados también como Transferosomas® (Cevc & Blume, 1992), estas vesículas constituyen un tipo especial de liposomas creados especialmente para incrementar el suministro transdérmico de agentes activos (Rajan et al, 2011), haciéndolos especialmente adecuados para el tratamiento de afecciones cutáneas (Vanaja et al, 2008). Este tipo de vesículas constituyen elementos de gran utilidad para las formulaciones cosméticas ya que son capaces de mejorar la estabilidad, y posiblemente, la tolerancia de sus ingredientes, tal como sucede para los antioxidantes (Alvarez-Roman et al, 2001; Padamwar & Pokharkar, 2006; Nohynek et al, 2007).

Los Transferosomas® se componen de fosfolípidos y surfactante. Estos fosfolípidos al ser similares a los existentes en el organismo, permiten que dichas vesículas sean elementos biocompatibles y biodegradables (Rajan et al, 2011). Las moléculas de surfactantes le confieren ultradeformación a estos liposomas, lo cual les permite adentrarse en canales del SC de menos de un décimo de su diámetro (Rajan et al, 2011), ya sea a través de la ruta inter o transcelular (Verma et al, 2010; Rajan et al, 2011).

El mecanismo por el cual los LUD incrementan el suministro de las sustancias activas, no se conoce completamente hasta el momento. No obstante, dos mecanismos han sido propuestos (Elsayed et al, 2006; Rajan et al, 2011):

- 1- Los Transferosomas[®] actúan como sistemas de transporte de las drogas, penetrando intactos en el SC para llevar las drogas hacia los estratos más profundos de la piel (Cevc & Blum, 2001; Cevc, Schatzlein & Richardsen, 2002)
- 2- Los Transferosomas[®] actúan como potenciadores de la penetración, perturbando los lípidos intercelulares altamente organizados del SC, y por tanto, facilitando la penetración de las moléculas de las drogas en y a través del SC (El Maghraby, Williams & Barry, 2001; Verma et al, 2003).

El primer mecanismo establece a su vez que la penetración de las vesículas intactas ocurre gracias al gradiente transdérmico (Cevc & Blum, 2001). Dichos mecanismo se basa en el hecho de que este tipo de vesículas son altamente hidrofílicas, y como tales, tratan de evitar la desecación mediante la migración hacia estratos con mayor contenido acuoso, asegurando así su adecuada hidratación (Verma, et al, 2010; Rajan et al, 2011). Pese a esto, también existen investigaciones que prueban que los LUD solamente mejoran la deposición de ciertas drogas sobre la piel (El Maghraby et al, 2001; Trotta et al, 2002), los cuales estarían a favor del segundo mecanismo.

Según Elsayed et al (2006), ambos mecanismos intervienen en el incremento de la transferencia de ciertas drogas hacia la piel por parte de los LUD en condiciones no oclusivas; y la predominancia de uno u otro en el proceso, dependerá de las características físicas y químicas de las drogas que estos contengan. No obstante, independientemente de cual sea el mecanismo, al traspasar la barrera de permeabilidad principal, el transporte de las drogas realizado por los LUD mejorará considerablemente el abastecimiento de dicha droga a la piel (Elsayed et al, 2006).

Existen una gran cantidad de factores que pueden contribuir a favor o en contra del proceso de incrementar el flujo transdérmico de una droga. La liberación de la droga desde las vesículas constituye un ejemplo de estos factores (Honeywell-Nguyenand & Bouwstra, 2005), ya que dicha cantidad dependerá del balance entre 2 factores: la afinidad entre la droga y la vesícula, y la solubilidad de la droga con los lípidos del SC (Honeywell-Nguyen & Bouwstra, 2003; 2005). En base a lo reportado en Honeywell-Nguyen y Bouwstra (2003), la liberación escasa de la droga es causada por la retención de la droga dentro de las vesículas en el SC, y porque las vesículas elásticas pueden actuar como un sistema de liberación lenta. Para el caso de las drogas hidrofílicas, tales

como el extracto de Marcela, la permeabilidad de estas drogas es relativamente menor *per se* (Williams, 2003). Por ende, si bien su encapsulación podrá incrementar su capacidad de penetración en la piel, al mismo tiempo, también puede resultar en una liberación enlentecida, en donde los fosfolípidos podrían conformar una barrera lipídica extra, disminuyendo el flujo de dichas drogas (Williams, 2003; Rajan et al, 2011).

Bioseguridad de la Crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) y sus componentes

La toxicidad sub-crónica dérmica y la irritabilidad primaria de un extracto hidroalcohólico de *Achyrocline satureioides*, fue evaluada durante 3 meses en piel de conejos Nueva Zelandia de 2 Kg de peso. En dichos estudios las lecturas correspondientes para constatar la posible presencia de eritema y/o edema se realizaron a las 24, 48 y 72 horas. La irritabilidad y las lesiones cutáneas fueron evaluadas de acuerdo con las escalas de Draize (Draize, Woodard & Calvery, 1994), y los resultados confirmaron los efectos no tóxicos en la piel de conejos, al no evidenciarse eritemas ni edemas, obteniendo un Índice de irritación primaria de cero (Rivera-Megret: comunicación personal).

En cuanto al resto de las sustancias activas, tanto Trylagen® (Lipotec® S.A., Barcelona, España) como Hygroplex HHG® (CLR -Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH®, Berlín, Alemania), constituyen elementos considerados como seguros para su uso cosmético, ya que las evaluaciones de su bioseguridad determinaron que ninguno produjo irritación en la piel o los ojos, según lo establecido en Lipotec® S.A. (2009b) y CLR Group (2007) respectivamente.

La crema GR 98010, también fue evaluada en su totalidad para determinar su potencial de irritación primaria, lo cual se llevó a cabo mediante pruebas epicutáneas de contacto Patch Test (Jadassohn, 1895) en humanos. Dicha técnica consistió en la aplicación, sobre la piel de cara antero-externa del brazo, de 0,2 ml del producto y un control con agua destilada, y la posterior oclusión del área durante un período de 48 horas con parches de Tegaderm® (3M®). Las lecturas de la región ocluida fueron realizadas al retirar el parche y a las 48 horas siguientes por un médico entrenado. Dichas lecturas incluyeron: la valoración del eritema, el edema y la descamación según

las escalas clínicas observadas en la Tabla 5 y la medición del Ph, en la zona de aplicación de la muestra y del agua así como en piel no testada, con un pHmetro Hanna H1 8424 (Hanna Instruments S.L., Eibar, España) o Cole Parmer Chem Cadet 5983-00 con electrodo plano (Cole-Parmer Instrument[®], Illinois, USA). A partir de los resultados obtenidos se concluyó que, bajo las condiciones de esta prueba con la técnica de test de parche epicutáneo cerrado, la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) no provocó ninguna manifestación de dermatitis de contacto irritativa ni alérgica, ni demostró variaciones significativas del pH cutáneo (Fuentes: comunicación personal). Por tanto, desde el punto de vista de la evaluación clínico-instrumental, el cosmético estudiado presenta una buena tolerancia cutánea (Fuentes: comunicación personal).

Una vez avalada la seguridad del producto para su uso cosmético, es posible proceder con los estudios que respalden la eficacia del mismo. De esta forma, en base a las propiedades previamente determinadas de los activos contenidos en la formulación de la crema, es de suponer que la utilización de dicho producto podrá incrementar los valores de hidratación y la elasticidad, mejorará las alteraciones de la TEWL y de los niveles de lípidos superficiales y atenuará las arrugas faciales. Dichas suposiciones fueron evaluadas en el estudio realizado en 21 voluntarias que se presenta a continuación.

Tabla 5: Escala clínica para la valoración de la irritabilidad primaria de la piel mediante la técnica de Test de parche epicutáneo. A cada nivel de un signo (Eritema, Edema, Escamas) le corresponde 1 valor de la escala (del 1-4 para la evaluación de eritemas y edemas, y del 1-5 para las escamas).

Eritema	Edema	Escamas	Valor
Ausencia de eritema	Ausencia de edema	Ausencia de escama	0
Eritema leve	Edema leve	Descamación leve	1
Eritema moderado	Edema moderado	Descamación moderada	2
Eritema intenso	Edema intenso	Descamación intensa	3
-	-	Fisuras y/o costra	4

Materiales y métodos

Diseño de estudio

El presente estudio fue diseñado con la finalidad de proveer información acerca de la eficacia de la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay), en condiciones habituales de uso. Debido a que dicha crema constituye una formulación ya finalizada, y a punto de ser lanzada al mercado, el diseño de estudio fue ideado con el propósito evidenciar la eficacia del producto final, no siendo así, la de sus ingredientes específicos. Por tal motivo, se trató de evitar los posibles errores o contaminaciones que pueden producirse en investigaciones en las que se evalúa la eficacia de la sustancia activa en una hemicara del voluntario y la del placebo en la otra, o en aquellas que realizan un control con el vehículo de dicha formulación (McDaniel et al, 2005). Por tanto, todos los sujetos de estudio recibieron el producto final para aplicar 2 veces al día en toda la región facial, sin emplear placebo alguno. La doble aplicación diaria de la crema fue adoptada con el fin de que los posibles beneficios de la formulación se reflejen al máximo en su eficacia (McDaniel et al, 2005).

El tiempo de duración del estudio fue estipulado en cuatro semanas, debido a que ciertas investigaciones de marketing, han demostrado que los consumidores son proclives a discontinuar el uso de un producto cosmético de dicha índole, si estos no observan cambios visibles en su piel en un corto período de tiempo (McDaniel et al, 2005). Se realizaron tres evaluaciones clínicas: previo al comienzo de la aplicación del producto (T_0), para determinar el estado basal de cada paciente, y luego a la segunda (T_1) y cuarta (T_2) semana de utilización del producto.

Sujetos de estudio

Previo a la iniciación del estudio, los participantes dieron su consentimiento para su intervención en el mismo, luego de haber sido informados sobre la normativa a aplicarse en dicha investigación.

El estudio se llevó a cabo, conforme a las pautas acordadas, en 21 voluntarias saludables de sexo femenino pertenecientes a una franja etaria de 40 a 58 años (48,62

$\pm 5,30$), y con presencia de signos clínicos de envejecimiento cutáneo en sus rostros. Los sujetos fueron asignados al único grupo de tratamiento del estudio, sin hacer uso de un grupo control.

Los criterios de inclusión y exclusión al grupo de estudio se observan en la Tabla 6. Se permite a los participantes el uso exclusivo de productos de limpieza y/o maquillaje que estos utilicen rutinariamente, quedando prohibida la aplicación de cualquier otro cosmético de tratamiento en el área facial durante el transcurso del estudio, ya que podrían interferir con los resultados del mismo.

A dichos voluntarios se les otorgó la crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay), junto con una breve instrucción de aplicación, la cual debieron realizar sobre su región facial dos veces al día durante las cuatro semanas de duración del estudio.

Tabla 6: Pautas para la inclusión y exclusión de los sujetos en el estudio.

Criterios de Inclusión	Los sujetos de estudio deberán sin excepción: - Proporcionar su consentimiento por escrito para su participación en el estudio - Ser del sexo femenino, y preferentemente tener más de 35 años de edad - Discontinuar el uso de cosméticos de tratamiento al menos 3 semanas antes del inicio del estudio - Gozar de buena salud y no padecer de ninguna condición médica que según la opinión del investigador, pueda interferir con los resultados - Manifestar la presencia de signos clínicos del envejecimiento cutáneo en su rostro
Criterios de Exclusión	- Padecer cualquier enfermedad dermatológica que de acuerdo con la opinión del médico responsable del estudio, pueda interferir con la correcta evaluación de la cara del participante. - Haber demostrado hipersensibilidad a alguno de los componentes del producto a testear. - Estar realizando alguna terapia con medicamentos, ya sea orales o tópicos, que según el médico responsable del estudio, puedan modificar los resultados del estudio (como ser medicamentos inmunosupresores o que contengan corticoesteroides) - Participación en otros ensayos clínicos o utilización de drogas experimentales en los 30 días anteriores al comienzo del estudio. - Mujeres que estén embarazadas, amamantando o planeando quedar embarazadas - Incumplimiento de las normas del protocolo del estudio, ya sea por indisposición o imposibilidad de los participantes

Valoración de datos

La toma de datos se llevó a cabo en un cuarto con aire acondicionado, con temperatura y humedad controladas ($21\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, y 40-60 % de humedad). La sesión de medidas comenzaba luego de un período de aclimatación de 15 minutos en las mismas condiciones atmosféricas. Los pacientes debían abstenerse de higienizar su cara o de aplicarse el producto a testear al menos dos horas antes del inicio de la sesión de evaluación.

En las cuatro sesiones de evaluación se estimaron algunas propiedades biofísicas de la piel (TEWL, hidratación, niveles de sebo) y la elasticidad, como propiedad biomecánica de la misma. A su vez, durante la primera y cuarta sesión se tomaron fotografías de las voluntarias, y se les realizó un cuestionario durante esta última.

Cuestionario

En la cuarta sesión se le entregó un cuestionario al paciente con el fin de interpretar y apreciar sus propias valoraciones en cuanto a la mejoría debido a la utilización del producto, específicamente en lo que refiere a: sensación de humectación, diferencias en la presencia de arrugas, cambios en la firmeza, luminosidad y en el aspecto general de su piel, y sobre la sensación que deja la crema una vez aplicada. Al mismo tiempo, dicho cuestionario posibilitó el reporte de posibles efectos adversos que por parte de las voluntarias. Conjuntamente, se interrogó a cada voluntaria acerca de su opinión con respecto a las características de la crema a testear, concretamente, sobre la textura, fragancia, aplicación y la eficacia de la misma.

Cada pregunta del cuestionario fue valorada con una escala de 4 puntos, la cual, en la parte del cuestionario que refiere a los rasgos de la crema, el valor 1 adquiere una significancia de “malo” y el 4 de “excelente”; con la excepción de la pregunta referida a la eficacia de la crema y recomendación del producto, a las cuales las voluntarias deberán responder por sí o por no. En la otra parte del cuestionario, el significado estricto de cada valor en la escala varía de acuerdo a la pregunta, pero en la mayoría de los casos el valor 1 implica una peoría a nivel de la piel, el 2 significa que no hubo

cambios a pesar de la utilización del producto, y los valores 3 y 4 implican distintos niveles de mejoría.

Fotografía

En primer y última sesión de medidas a cada paciente se le tomaron fotografías a color de su región facial de frente, perfil y con ángulo de 45°. Dichas fotografías serán captadas por la cámara digital (Cámara EOS Rebel T2i, marca Canon) con 18.0 megapíxeles de resolución. La cámara fue colocada sobre un trípode para adaptar la altura de la cámara según la altura de la voluntaria.

La evaluación de las fotografías fue realizada mediante la comparación de los dos pares de fotos tomadas para cada paciente haciendo uso de las siguientes escalas: “The Wrinkle Severity Rating Scale (WSRS)” (Day et al, 2004), “Grading Scale for Crow’s Feet” (GSCF) (Carruthers et al, 2008a), “Grading scale for forehead lines” (GSFL) (Carruthers et al, 2008b) y “Grading scale for marionette lines” (GSML) (Carruthers et al, 2008c).

Tabla 7: Breve reseña redactada de los 5 grados de la escala “The Wrinkle Severity Rating Scale (WSRS)” (Day et al, 2004).

Grado	Categorización	Descripción
0	Ausente	Pliegues nasolabiales no visibles; la piel se observa continua
1	Leve	Pliegues nasolabiales superficiales pero visibles, con una leve hendidura; rasgo facial apenas perceptible
2	Moderado	Pliegues nasolabiales medianamente profundos; rasgo facial evidente
3	Severo	Pliegues nasolabiales muy largos y profundos; rasgo facial prominente
4	Intenso	Pliegues nasolabiales extremadamente profundos y largos; el rasgo facial es tan notorio que afecta la apariencia del rostro

Para estimar la severidad del pliegue nasolabial, se utilizó la escala WSRS (Day et al, 2004). La puntuación de dicha severidad se basa en la evaluación visual de la longitud y profundidad aparente de estos pliegues. Cada grado de la escala WSRS en sí mismo representa un cambio clínicamente significativo en la severidad de los pliegues nasolabiales con respecto a los grados adyacentes. Las definiciones estandarizadas de cada uno de los 5 niveles incluidos en esta escala comprenden representaciones en

formato visual (fotografías) (Figura 1) junto con descripciones verbales estandarizadas (Tabla 7). Si bien los niveles de esta escala se encuentran originalmente numerados del 1 al 5, a modo de facilitar la comparación con el resto de las escalas fotográficas, en este estudio dichos grados de severidad serán numerados del 0 al 4, de manera que el nivel 0 se corresponderá con el nivel 1 de la escala original y así sucesivamente.

Las tres escalas restantes, abarcan también graduaciones de 5 niveles. Cada uno de estos niveles, se encuentra definido por una fotografía simulada por computadora (Carruthers & Carruthers, 2010). Los cambios anatómicos específicos resultantes del envejecimiento cutáneo fueron incorporados a las fotografías transformadas, creando así 5 imágenes representativas que muestran secuencialmente las variaciones del aspecto considerado (Carruthers & Carruthers, 2010). Las descripciones fotográficas correspondientes a cada uno de los grados comprendidos en las escalas GSCF, GSFL y GSML se observan en las Figuras 2, 3 y 4 respectivamente, mientras que el significado de cada grado dependiendo de la escala se encuentran en la Tabla 8.

En particular, la GSCF se utilizó para cuantificar objetivamente la severidad de las líneas del canto lateral del ojo, conocidas habitualmente como “patas de gallo” (Carruthers et al, 2008a; Carruthers & Carruthers, 2010). En este estudio se hizo uso de la escala estática de la GSCF, la cual evalúa dichas líneas con el rostro en reposo.

Tabla 8: Significado de los distintos grados (0-4) de las escalas “Grading Scale for Crow’s Feet” (GSCF) (Carruthers et al, 2008a), “Grading scale for forehead lines” (GSFL) (Carruthers et al, 2008b) y “Grading scale for marionette lines” (GSML) (Carruthers et al 2008c).

Grado	GSCF	GSFL	GSML
0	Sin arrugas	Sin arrugas	Pliegue no visible, la piel se observa continua
1	Arrugas muy finas	Arrugas mínimas	Pliegue superficial pero visible con una leve hendidura
2	Arrugas finas	Arrugas suaves	Pliegues moderadamente profundos, rasgo facial evidente
3	Arrugas moderadas	Arrugas moderadas	Pliegue muy largo y profundo, rasgo facial prominente
4	Arrugas severas	Arrugas severas	Pliegue extremadamente largo y profundo, rasgo tan evidente que afecta la apariencia del rostro



Fig. 1: Representación fotográfica de cada grado de la escala “The Wrinkle Severity Rating Scale (WSRS)” (Day et al, 2004) utilizada para describir la gravedad de los pliegues nasolabiales.

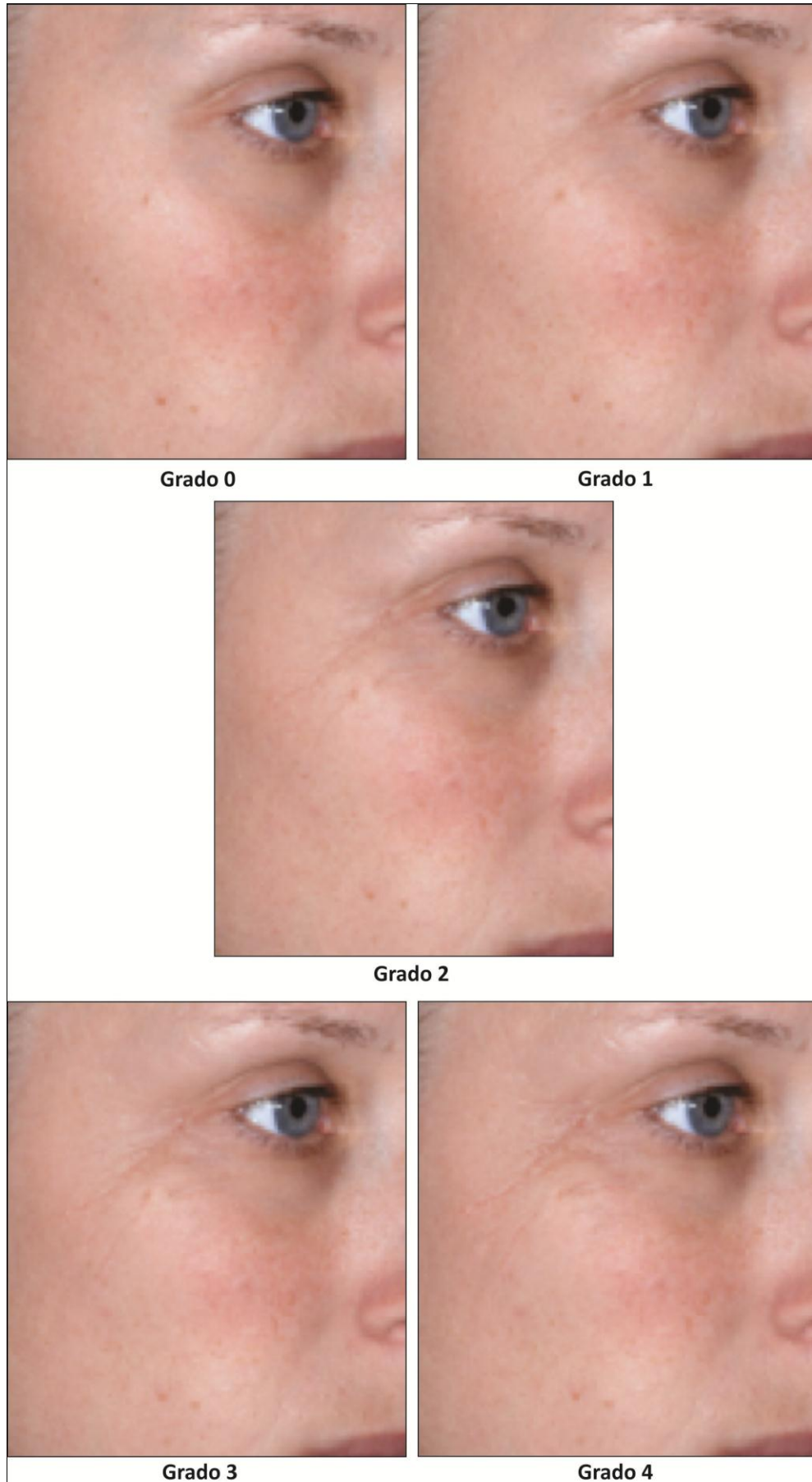


Fig. 2: Descripción fotográfica de la severidad de las patas de gallo correspondiente a los 5 niveles de la escala "Grading Scale for Crow's Feet" (GSCF) (Carruthers et al, 2008a).



Fig. 3: Imágenes transformadas que describen la gravedad de las arrugas de la frente para uno de los 5 grados (0-4) existentes en la escala “Grading scale for forehead lines” (GSFL) (Carruthers et al, 2008b).



Grado 0



Grado 1



Grado 2



Grado 3



Grado 4

Fig. 4: Fotografías ilustrativas de los 5 niveles de severidad de las arrugas melometales (0-4) pertenecientes a la escala "Grading scale for marionette lines" (GSML) (Carruthers et al, 2008c).

La GSFL por su parte, fue empleada para ponderar las líneas horizontales de la frente. Al igual que para la GSCF, en este estudio se utilizó la escala que evalúa dichas arrugas en reposo.

Por último, los pliegues melometales o peribucales, también denominados como “líneas de marioneta”, fueron evaluados mediante la aplicación de la GSML.

Evaluación de las propiedades de la piel

El testeo de los parámetros de la piel se realizó mediante la utilización del equipo Multi Skin Test Center MC-900® (Courage + Khazaka Electronic GMBH®, Alemania), al que le fueron conectados las distintas sondas encargadas de medir las propiedades de la piel a evaluar. Los datos colectados a partir de dichos dispositivos son extraídos por un software especial mediante la conexión del aparato a una PC.

Todas las propiedades se midieron por triplicado en ambas mejillas, frente y mentón.

Propiedades Biofísicas de la piel

Hidratación: Para estimar variaciones en el contenido acuoso del SC se hizo uso de la Sonda de medición de la Hidratación (Courage + Khazaka Electronic GMBH®, Alemania). El principio de medición de dicha sonda, se basa en la determinación de los cambios en la capacitancia de la superficie cutánea. Los resultados que proporciona este instrumento de medida son expresados en unidades arbitrarias y en una escala del 0 al 99 (Courage + Khazaka electronics GmbH®, 2009). Cuanto mayor sea el contenido acuoso, mayor es la conductancia o la capacitancia eléctrica de la superficie de la piel (Takahashi, 2001; Courage + Khazaka electronics GmbH®, 2009).

Pérdida transepidérmica de agua (TEWL): La evaluación del estado funcional de la barrera cutánea se realizó a través de la determinación del parámetro TEWL, debido a la existente correlación entre ambos (Verdier-Sévrain y Bonté, 2007). En este estudio, dicho parámetro será medido con la Sonda de medida del índice TEWL (Courage + Khazaka Electronic GMBH®, Alemania). Este dispositivo se basa en el método de la cámara abierta, y consiste en un cilindro hueco con una abertura lateral. Dentro de este cilindro, se estima, en base al principio de difusión, la tasa de agua evaporada que

atraviesa el SC. La densidad del gradiente de vapor, es medida indirectamente por 2 pares de sensores (de temperatura y humedad relativa) ubicados en el interior del cilindro, y luego es analizado por un microprocesador. El índice de TEWL es emitido en unidades arbitrarias y dentro de una escala de 0 a 20 (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009). Valores altos de TEWL, estarían revelando un deterioro en la función de barrera epidérmica (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009).

Lípidos en superficie: El contenido lipídico superficial de la piel, se determinó a partir del Casete de medición del sebo (Courage + Khazaka Electronic GMBH[®], Alemania). Dichos lípidos son colectados al presionar levemente la cinta opaca del casete sobre la piel durante 10 segundos (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009). Al absorber estos lípidos, la cinta incrementa su transparencia, permitiendo un aumento en la transmisión de la luz a través de esta, lo cual es detectado por un fotómetro (Dobrev, 2007). Los valores estipulados por el casete para los niveles de lípidos en superficie, dados en UA, se encuentran ente 0 y 99 (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009).

Propiedad Biomecánica de la piel: La elasticidad cutánea se valorará a través de la medición realizada por la Sonda de medición de la Elasticidad (Courage + Khazaka Electronic GMBH[®], Alemania). El principio físico subyacente de este dispositivo consiste en la succión de la piel, hacia el interior de una cámara de 2mm de abertura, mediante la aplicación de una presión negativa de 400 mbar durante intervalos de 3 segundos al que le sigue un mismo período de relajación en donde la presión ejercida cesa (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009).

La elasticidad cutánea, es estimada por dicho dispositivo mediante la evaluación de la resistencia de la piel a la presión ejercida en relación a su habilidad de retornar a su configuración normal (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009). Cuanto más alto sea el porcentaje de elasticidad, mejor será la capacidad de la piel en adoptar nuevamente su forma y dimensiones originales cuando las fuerzas deformantes que actúan sobre ella han desaparecido (Courage + Khazaka electronics GmbH[®], 2009).

Análisis estadístico

Para el procesamiento y análisis de datos se emplearán los programas SigmaStat (versión 3.5) y SigmaPlot (versión 10.0).

Cuestionarios y Comparación fotográfica

La frecuencia de elección por parte de las voluntarias de las distintas categorías presentes en las interrogantes del cuestionario, serán plasmadas en histogramas.

El mismo procedimiento se llevará a cabo con la valoración de las fotografías en base a las escalas mencionadas anteriormente. Conjuntamente, se comparará la puntuación de las fotografías obtenidas al comienzo y al final del estudio, considerándose como mejoría en el aspecto de las arrugas correspondientes, la inclusión de la fotografía de la sesión T_2 en una categoría de severidad menor que la que fue establecida para la sesión T_0 . A su vez, los valores que se obtengan en las fotografías también serán contrastados con las edades pertinentes de los sujetos de estudio mediante el test de correlación de Rangos de Spearman.

Propiedades fisiológicas

Para todos los parámetros fisiológicos estimados, dicho análisis abarcó el procesamiento de los valores que arrojaba cada aparato de medida. Con el fin de establecer la posible existencia de una diferencia estadísticamente significativa entre los datos de dichos parámetros que se obtengan para cada región facial evaluada en todas las sesiones de medida (T_0 , T_1 y T_2), se efectuaron comparaciones pareadas mediante el test de t -student en aquellas muestras normalmente distribuidas, o el test de Wilcoxon para las muestras con distribución distinta a la normal. En ambos casos, la significancia estadística fue establecida para valores de $p < 0,05$.

Conjuntamente, en aquellas comparaciones que adquirieron significancia estadística, se calcularon los porcentajes de cambio con respecto al valor del parámetro obtenido en la sesión T_0 , es decir que dicho porcentaje indicará cuanto incrementó o disminuyó el parámetro evaluado en relación al inicio del estudio. Posteriormente, estos porcentajes de cambio serán caracterizados en histogramas, al igual que los valores *per se* medidos en cada sesión.

El comportamiento de los distintos parámetros con respecto al rango etario de los sujetos de estudio también será tenido en cuenta, observándose mediante el coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Este mismo análisis se aplicará para determinar la correlación existente para las propiedades fisiológicas entre sí.

En todos los casos, la significancia estadística fue establecida para valores de $p < 0,05$.

Fuente de financiación

La crema GR 98010 (Montevideo, Uruguay) es un producto perteneciente al Laboratorio Onacril S.A. (Montevideo, Uruguay). La realización del presente estudio se dio gracias a la financiación de dicha empresa y los servicios prestados por la misma. Entre estos se encuentran la utilización de sus instalaciones para la toma de medidas, fotografías y selección de las voluntarias para el estudio. A su vez, parte del personal de la empresa también colaborará con la realización del estudio. En particular, la Doctora en Dermatología y una de las Cosmetólogas de la empresa participarán en la selección de los sujetos de estudio e intervendrán en la toma de medidas, y la Química Farmacéutica será quien proporcione la información técnica correspondiente para poder diseñar el estudio acorde a las propiedades del producto. A su vez, la financiación abarca la remuneración de un fotógrafo profesional para la toma de las fotografías del estudio y la subvención de los participantes. Por otro lado, los instrumentos de bioingeniería cutánea, al ser propiedad de Onacril S.A., también fueron facilitados por esta para la medición de las propiedades fisiológicas cutáneas.

Resultados

El estudio se llevó a cabo según las pautas previamente acordadas, y la totalidad de los pacientes finalizó el estudio en tiempo y forma. Las sesiones de medida fueron realizadas bajo las condiciones ambientales y temporales preestablecidas.

Cuestionarios

En general, la mayoría de las voluntarias notaron una mejoría en distintos aspectos de su piel con respecto al inicio del estudio, y calificaron positivamente las características de la crema. No obstante, existió una mención negativa sobre los efectos de la crema.

Por otra parte, ninguna de las participantes del estudio reportó que el producto le causase molestia o irritación alguna.

En cuanto a la pregunta acerca de cómo cada una de las voluntarias percibe la humectación de su cutis luego de aplicada la crema (Figura 5A), el 76,19 % (correspondiente a 16 participantes), optó por la respuesta “Más humectada”, mientras que 4 de ellas (19,05 %), expresaron sentirla “Mucho más humectada”. Asimismo, si bien ninguna participante estableció una ausencia de cambios en este aspecto, hubo 1 voluntaria (4,76 %) que dijo percibir la piel de su rostro “Más seca”.

Respecto a la pregunta referida a la observación de posibles cambios en las arrugas de su cutis (Figura 5B), 10 de las voluntarias (47,62 %) expresaron que la cantidad de arrugas permanecía constante, pero que la profundidad de las mismas había disminuido. A su vez, 5 del total de voluntarias (23,81 %) dijeron no percibir cambios en sus arrugas, mientras que 6 de ellas (28,57 %) indicaron que tanto la cantidad como la profundidad de sus arrugas se habían reducido.

En relación a los cambios en la firmeza (Figura 5C) que las voluntarias hubiesen observado en su cutis, 17 de ellas (80,95 % del total) expresaron sentirlo más firme. Entre las participantes restantes, 1 de ellas consideró que no habían ocurrido cambios en este aspecto, y las otras 3 (correspondiente al 14,29 %), que su cutis se encontraba “Considerablemente más firme”.

En referencia a la luminosidad de la piel del rostro de las participantes (Figura 5D), el 80,95 % y 14,29% de estas, manifestaron que su cutis se veía más luminoso y “Mucho más luminoso” respectivamente, que previo a la utilización la crema. La participante restante no advirtió cambios en la luminosidad de su rostro.

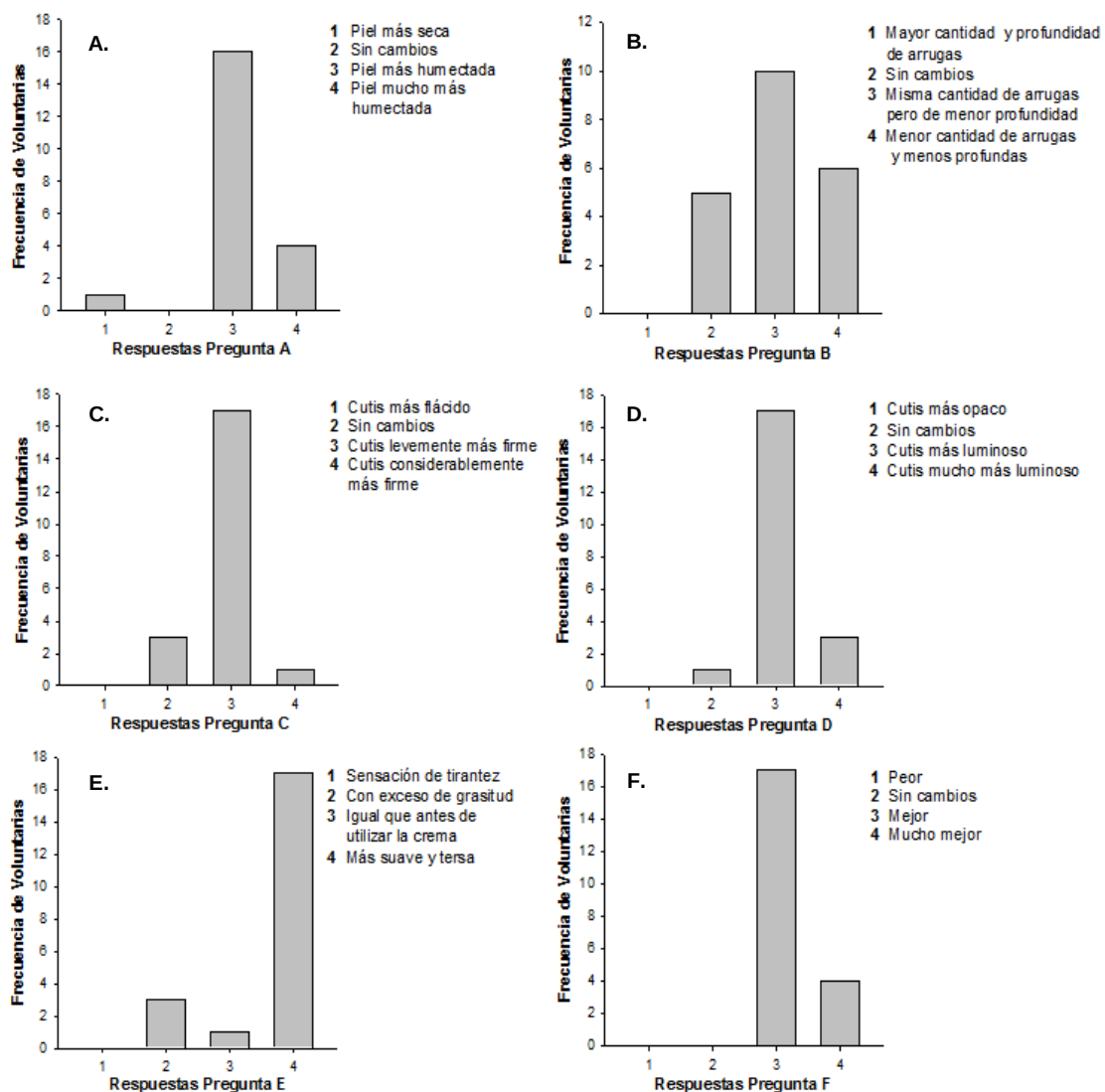


Fig. 5: Frecuencia de respuestas al cuestionario realizados a las voluntarias en la sesión T₂ con respecto a las percepciones que estas hubiesen observado acerca de: la sensación de humectación de su piel desde que utilizan la crema (A.), cambios en sus arrugas (B.), la firmeza (C.) y luminosidad (D.) de su rostro, la sensación cutánea post-aplicación del producto a evaluar (E.) y el aspecto general de su cutis (F.). Las posibles respuestas a cada pregunta se encuentran a la derecha del histograma correspondiente.

Con respecto a la pregunta referente a qué sensación percibe la usuaria del producto luego de que este es aplicado (Figura 5E), 17 de estas respondieron que observaban su cutis más suave y terso. Por otro lado, 3 de las 21 voluntarias advirtieron un exceso de grasitud en el mismo, existiendo 1 sola participante que señaló no percibir cambios pese a la utilización del producto.

Al cuestionar a las voluntarias acerca de cómo consideran que se encuentra el aspecto general de su cutis luego del tratamiento (Figura 5F), el 80,95 % de las mismas notaron un mejor aspecto su rostro, en comparación con antes de la utilización de la crema, y el 19,04% restante estableció que este se encontraba mucho mejor.

En cuanto a las preguntas referentes a las características de la crema (Figura 6) el 71,43 % (correspondiente a 15 de las 21 voluntarias), calificó como “Bueno” al aspecto de la crema, mientras que el 19, 05 % y el 9,52 % (equivalente a 2 del total de voluntarias), lo valoró como “Excelente” y “Regular” respectivamente. Por otro lado, la fragancia del producto fue catalogado como “Excelente” por 7 (33,33%) de los sujetos de estudio, “Buena” por el 57, 14 %, lo cual corresponde a 12 de las 21 voluntarias, y “Regular” por el 9,52 % de las participantes del estudio. Conjuntamente, al 80.95 % de las voluntarias la aplicación de la crema le resultó “Buena”, y al 19,05 % restante, “Excelente”.

Por otra parte, 16 de las 21 participantes expresaron que la crema sí les resultó efectiva en mejorar las arrugas de su rostro, mientras que el resto de las voluntarias respondió a esto negativamente. Asimismo, la totalidad de las voluntarias indicó que recomendaría la crema.

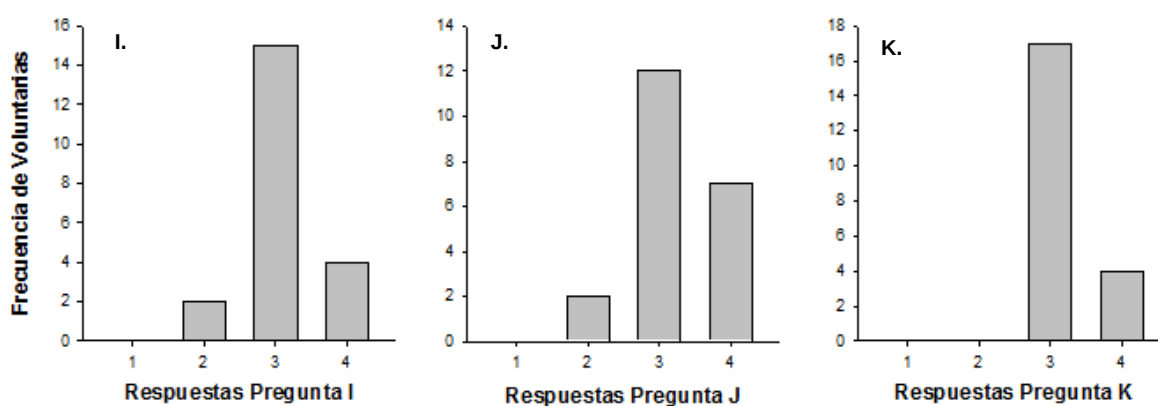


Fig. 6: Percepción de las voluntarias acerca de las características de la crema, específicamente sobre: aspecto de la crema (I.), fragancia (J.) y cómo le resulta la aplicación de la misma (K.). Para todos los casos, el significado de las 4 categorías corresponden a: 1-Malo, 2-Regular, 3-Bueno, 4-Excelente.

Fotografía

La mayoría de las arrugas evaluadas en el estudio (Figuras 7 y 8), se correspondían con los grados intermedios de severidad de las 4 escalas utilizadas. De hecho, en todas las escalas, el grado al que le fueron adjudicadas la mayor cantidad de voluntarias en base a la severidad de sus arrugas, fue el 2. Por otro lado, la amplia mayoría de las pacientes (correspondiente al 95,94%), poseen distintos grados de severidad dependiendo de la arruga evaluada.

A partir de la comparación realizada entre las fotografías tomadas en la sesión T_0 con respecto a T_2 , se observó que en 13 de las 21 voluntarias (es decir en el 61,90% de los casos) existieron mejorías en al menos 1 de las distintas arrugas evaluadas. De hecho, en 4 de estas participantes, fueron detectadas mejorías en 2 tipos diferentes de arrugas, donde la principal coincidencia existió entre los pliegues nasolabiales y las líneas marioneta.

En general, la mayoría de los mejoramientos ocurridos se dieron en los niveles con una severidad intermedia de arrugas, es decir, en aquellas líneas que fueron categorizadas en los grados 2 y 3 de cada escala. En particular, 7 de las mejoras ocurridas se dieron al pasar de un nivel de severidad 2 al 1 de la misma escala, y en 6 de los casos, la mejora ocurrió cuando arrugas catalogadas con un grado 3 de severidad pasaron a ser clasificadas en el grado 2 de la escala considerada. Las 4 mejoras restantes, resultaron de una reducción en la severidad de arrugas donde el aspecto de las mismas paso de estar representado por el nivel 1 a un nivel 0 de la escala correspondiente, no existiendo ninguna mejoría para los niveles catalogados como severos (nivel 4). Asimismo, todas las mejorías ocurridas se dieron entre niveles consecutivos de la misma escala, es decir que, en todos los casos la disminución existente entre niveles de severidad siempre ocurrió de un nivel dado a un nivel inferior dentro de dicha escala.

Grado	GSML	WSRS
0	Pliegue no visible, la piel se observa continua	Pliegues nasolabiales no visibles; la piel se observa continua
1	Pliegue superficial pero visible con una leve hendidura	Pliegues nasolabiales superficiales pero visibles, con una leve hendidura; rasgo facial apenas perceptible
2	Pliegues moderadamente profundos, rasgo facial evidente	Pliegues nasolabiales medianamente profundos; rasgo facial evidente
3	Pliegue muy largo y profundo, rasgo facial prominente	Pliegues nasolabiales muy largos y profundos; rasgo facial prominente
4	Pliegue extremadamente largo y profundo, rasgo tan evidente que afecta la apariencia del rostro	Pliegues nasolabiales extremadamente profundos y largos; el rasgo facial es tan notorio que afecta la apariencia del rostro

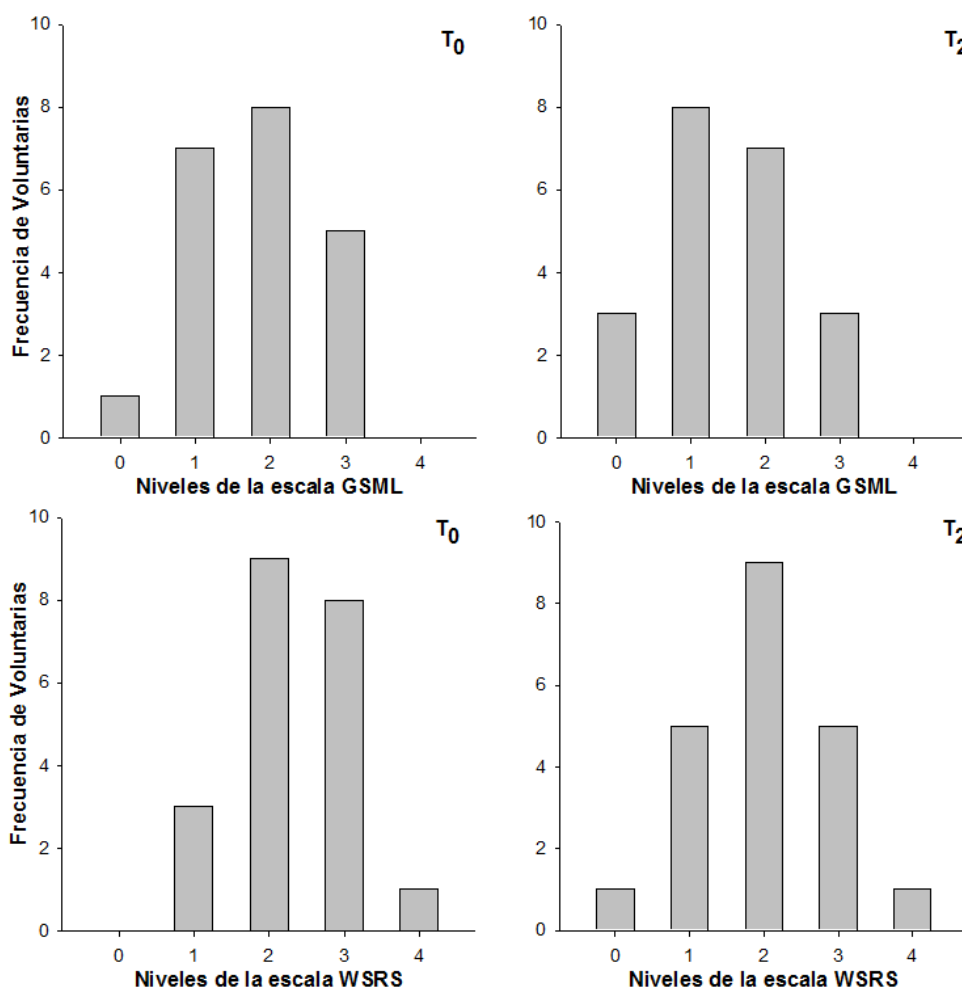


Fig. 7: Distribución de los sujetos de estudio en los distintos niveles de severidad de las escalas “Grading scale for marionette lines” (**GSML**) (Carruthers et al 2008c) y “The Wrinkle Severity Rating Scale (**WSRS**)” (Day et al, 2004). La descripción de cada uno de estos niveles se observa en la tabla.

Por otra parte, en ninguna de las voluntarias el grado de severidad de sus arrugas resultó ser mayor al final de estudio que al comienzo del mismo, sino que fueron menores o iguales.

En cuanto a los resultados relacionados con la edad de las pacientes, se advirtió que las líneas marioneta mantenían una correlación positiva con la edad al inicio del estudio ($r=0,435$, $p=0,0481$), aunque dicha correlación no fue observada para ninguno de los otros grupos de líneas evaluadas.

A su vez, se observó que en aquellas cuyo rango etario se encuentra entre los 40 y 44 años, ninguna de sus arrugas evaluadas fue calificada como de grado 4, y la mayoría de estas fueron catalogadas como grado 2. Asimismo, de las 5 integrantes de dicho rango etario, en 3 de ellas fueron observadas mejorías en los pliegues nasolabiales y los peribucles.

Por otro lado, entre las 10 pacientes cuyas edades van desde los 46 a 50 años se indicaron mejorías en 8 de ellas. A su vez, el nivel 2 fue el elegido para categorizar la mayoría de las arrugas de dichas pacientes.

Por su parte, las voluntarias de edad entre los 52 a 58 años, no observaron mejorías en la escala GSCF ni en la GSFL, sino que en las 2 personas en las cuales se manifestó una mejoría, fueron detectadas por las escalas WSRS y GSML.

En relación a los resultados obtenidos al ponderar los pliegues nasolabiales (Figura 7), se observó que en el 42,86% de las voluntarias dichos pliegues fueron catalogados como grado 2, proporción que se mostró invariable en ambas sesiones. A su vez, las participantes incluidas en el grado 3 durante la sesión inicial, se vio reducida hasta igualar a aquellas incluidas en el grado 1 en la última sesión del estudio, es decir, a un 23,81% del total. Ambos grados fueron más frecuentes, principalmente en participantes entre 50 y 59 años de edad (Tabla 9). La mejoría restante ocurrió en una voluntaria a quien sus arrugas habían sido catalogadas inicialmente como grado 1, y en la sesión final del estudio, estas no podían apreciarse a simple vista, por lo que fueron calificadas como grado 0. Por otra parte, una de las participantes de 49 años, no solo obtuvo una clasificación de grado 4 en sus pliegues nasolabiales, sino que se mantuvo en dicha categoría de severidad durante el estudio.

La estimación de la severidad de las “líneas de marioneta” (Figura 7) señaló que en la mayor parte de las participantes, principalmente aquellas entre 40 y 49 años (Tabla 9),

Grado	GSCF	GSFL
0	Sin arrugas	Sin arrugas
1	Arrugas muy finas	Arrugas mínimas
2	Arrugas finas	Arrugas suaves
3	Arrugas moderadas	Arrugas moderadas
4	Arrugas severas	Arrugas severas

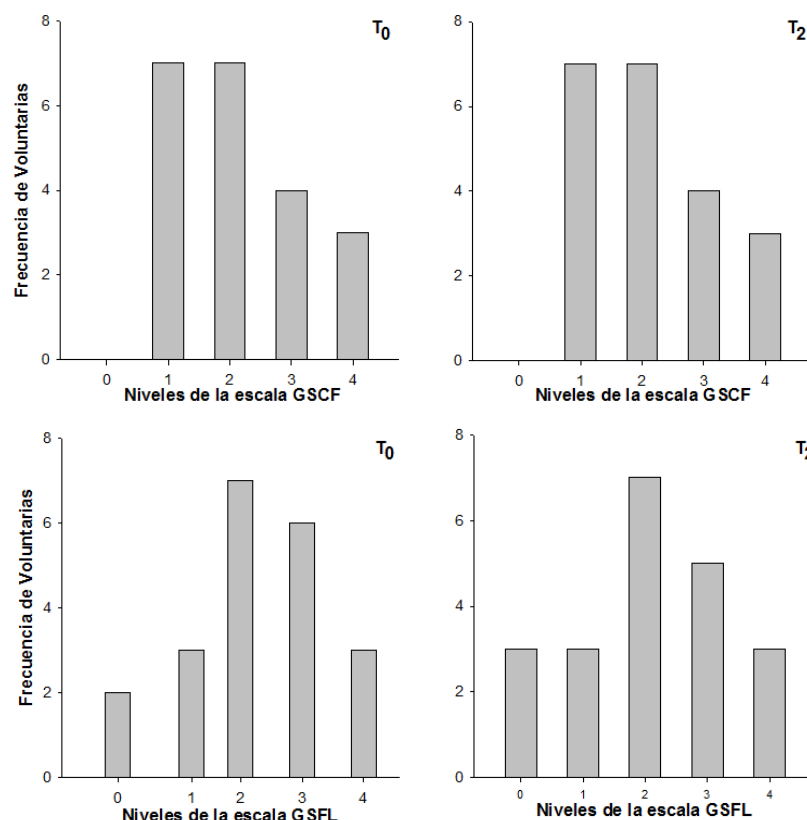


Fig. 8: Proporción de participantes incluidas durante la sesión T₀ (izquierda) y T₂ (derecha), en cada uno de los 5 niveles pertenecientes a las escalas “Grading Scale for Crow’s Feet” (GSCF) (Carruthers et al, 2008a) y “Grading scale for forehead lines” (GSFL) (Carruthers et al, 2008b). La descripción correspondiente a cada nivel según la escala se observa a la derecha de ambos histogramas.

al nivel 1, finalizaron el mismo sin “líneas de marioneta” evidentes a simple vista, o sea, clasificadas como grado 0. En cuanto a las arrugas más evidentes, fueron observadas principalmente en voluntarias entre 50 y 58 años (Tabla 9). A su vez, se advirtió que, si bien ninguna voluntaria había sido incluida en este último nivel, la cantidad de voluntarias cuyos pliegues melometales fueron categorizados como grado 3, se redujo de 5 a 3 participantes en la sesión de medidas final.

la categorización de dichas arrugas se concentraba en los niveles 1 y 2 durante ambas sesiones de medida. En particular, de las 8 participantes a quienes la severidad de sus pliegues peribucal fue catalogada en la sesión T₀ como de profundidad moderada (grado 2), al finalizar el estudio, 3 de ellas habían reducido dicha severidad, alcanzando el nivel 1. Por otro lado, 2 de las 7 participantes que comenzaron el estudio con una severidad dichos pliegues equivalente

A partir de la escala utilizada para estimar la severidad de las “patas de gallo”

(Figura 8), se obtuvo que, para un tercio del total de voluntarias, dichas líneas de expresión fueron catalogadas como arrugas muy finas, mientras que para otro tercio de las participantes, las mismas fueron clasificadas como finas. En cuanto al tercio restante de voluntarias, para 4 de ellas sus “patas de gallo” fueron calificadas como moderadas, y en las

Tabla 9: Calificaciones resultantes del análisis fotográfico obtenido mediante las escalas “Grading Scale for Crow’s Feet” (GSCF) (Carruthers et al, 2008a), “Grading scale for forehead lines” (GSFL) (Carruthers et al, 2008b), “The Wrinkle Severity Rating Scale” (WSRS) (Day et al, 2004) y “Grading scale for marionette lines” (GSML) (Carruthers et al, 2008c), durante las sesiones de medida T₀ y T₂, para cada una de las participantes del estudio representadas por su edad correspondiente.

Edad	GSCF		GSFL		WSRS		GSML	
	T ₀	T ₂	T ₀	T ₂	T ₀	T ₂	T ₀	T ₂
40	2	2	0	0	1	0	1	0
41	1	1	2	2	2	2	0	0
41	2	2	2	2	2	2	2	1
42	2	2	1	1	2	2	1	1
44	3	3	3	3	3	3	2	1
46	1	1	0	0	2	2	3	2
46	1	1	3	3	3	2	1	1
48	4	4	1	0	2	1	1	1
48	4	4	4	4	3	2	1	1
48	3	3	2	2	3	3	2	2
49	3	3	3	3	2	2	2	2
49	2	2	1	1	4	4	2	2
50	1	1	4	4	3	3	2	1
50	2	2	3	2	1	1	3	3
50	2	2	2	1	1	1	3	2
50	2	2	3	3	2	1	1	1
52	1	1	4	4	3	3	2	2
55	3	3	3	3	2	2	3	3
56	1	1	2	2	3	2	2	2
58	1	1	2	2	2	1	1	0
58	4	4	2	2	3	3	3	3

otras 3 participantes, de las cuales 2 tenían 48 años (Tabla 9), fueron clasificadas como severas. Asimismo, los datos extraídos de esta escala indican que no hubo ninguna mejoría, por lo que las calificaciones de estas arrugas obtenidas en ambas sesiones de medida, coinciden. Por otro lado, en las participantes entre 40 y 49 años (Tabla 9), se observó que la mayoría de estas arrugas fueron calificadas como de grado 1 o 2.

La categorización de las líneas de la frente (Figura 8), mostró para ambas sesiones de medida, que en un tercio de las pacientes dichas arrugas fueron calificadas como

arrugas suaves, es decir dentro del nivel 2 de dicha escala. En segundo lugar, le siguen las participantes cuyas arrugas de la frente se catalogaron dentro del nivel 3. El nivel 4 fue mayormente observado entre las voluntarias de mayor edad, y el nivel 1 casi exclusivamente entre participantes de 40 a 49 años (Tabla 9). El número de voluntarias a quienes se consideró que no tenían arrugas en su frente aumentó de 2 a 3 en la última sesión. Las otras 2 mejoras ocurridas según lo estimado a partir de esta escala se dieron en pacientes de 50 años, cuyas arrugas habían sido clasificadas como de nivel 2 y 3 al inicio del estudio (Tabla 9).

Propiedades Fisiológicas cutáneas

Correlaciones

En general, no se observó significancia estadística para la mayor parte de los análisis de correlación entre propiedades fisiológicas y entre estas y la edad de las voluntarias. De hecho de los 5 casos en los que fue observada significancia estadística, 3 de estos fueron en la mejilla derecha, y correlacionan la edad con los valores de hidratación ($r= 0,457$, $p= 0,037$), TEWL ($r= -0,441$, $p= 0,044$) y elasticidad ($r= -0,499$, $p= 0,021$) obtenidos en esta zona durante la sesión T_0 .

De las correlaciones restantes, una se observó en el mentón para valores obtenidos en la primera sesión de medida, y correlaciona negativamente los valores de la TEWL con los de la hidratación ($r= -0,607$, $p= 0,004$). La otra correlación fue observada en la última sesión del estudio para valores obtenidos en la mejilla derecha, en la cual se establece una correlación negativa entre los valores de hidratación y elasticidad ($r= -0,434$, $p= 0,049$).

Por otro lado, pese a no haber adquirido significancia estadística en la mayoría de los casos, se observa que el coeficiente de correlación entre la hidratación y la TEWL es siempre negativo. La elasticidad parece correlacionarse negativamente con la hidratación en 5 de los análisis realizados, cuatro de los cuales se observan para valores obtenidos en T_2 . El análisis de correlación de los niveles de lípidos superficiales con respecto a la TEWL y a la hidratación, generó mayormente coeficientes negativos a pesar de que no alcanzaron la significancia estadística. Esta misma situación fue

observada en otros 3 casos al correlacionar la TEWL con la elasticidad, y en otros 2 análisis entre la elasticidad y el sebo.

Hidratación

Durante todo el transcurso del estudio, es decir en las tres sesiones de medida, se observó que la región facial que obtuvo el valor de hidratación promedio más alto fue el mentón, seguido de la frente, la mejilla izquierda y por último la mejilla derecha (Figura 9). A su vez, en todas las regiones faciales evaluadas, se advirtió un incremento en el valor medio de la hidratación en la sesión T_1 con respecto a T_0 . Sin embargo, se observa un posterior decremento de dichos valores en la sesión final, en tres de las cuatro zonas del rostro evaluadas. No obstante, los valores medios obtenidos al final del estudio en cada región facial fueron mayores a los obtenidos en la sesión inicial.

El análisis estadístico de esta propiedad mediante la comparación pareada entre dos sesiones de medida para una región facial dada, estableció que, en ambas mejillas existía una diferencia estadísticamente significativa entre los valores medios obtenidos para cada una de ellas en las sesiones T_0 y T_1 , y entre T_1 y T_2 . Sin embargo, en ninguna de estas 2 regiones se detectó significancia estadística al comparar los valores obtenidos al comienzo del estudio con respecto los adquiridos al final del mismo.

Por su parte, en la región de la frente, las comparaciones entre 2 sesiones de medida realizada a través del Pair t-test, determinaron que la media de los valores de la hidratación estimados en la sesión T_0 diferían estadísticamente con respecto a T_1 y T_2 . Pese a esto, la comparación entre estas dos últimas estableció que las diferencias entre ambas no eran lo suficientemente grandes como para descartar la posibilidad de estas fuesen debido al azar.

En cuanto a los valores de hidratación estimados en el mentón, la comparación ejecutada por Pair t- test determinó que existía una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de todas las combinaciones posibles de dos sesiones, o sea, entre T_0 y T_1 , T_1 y T_2 , y T_0 y T_2 .

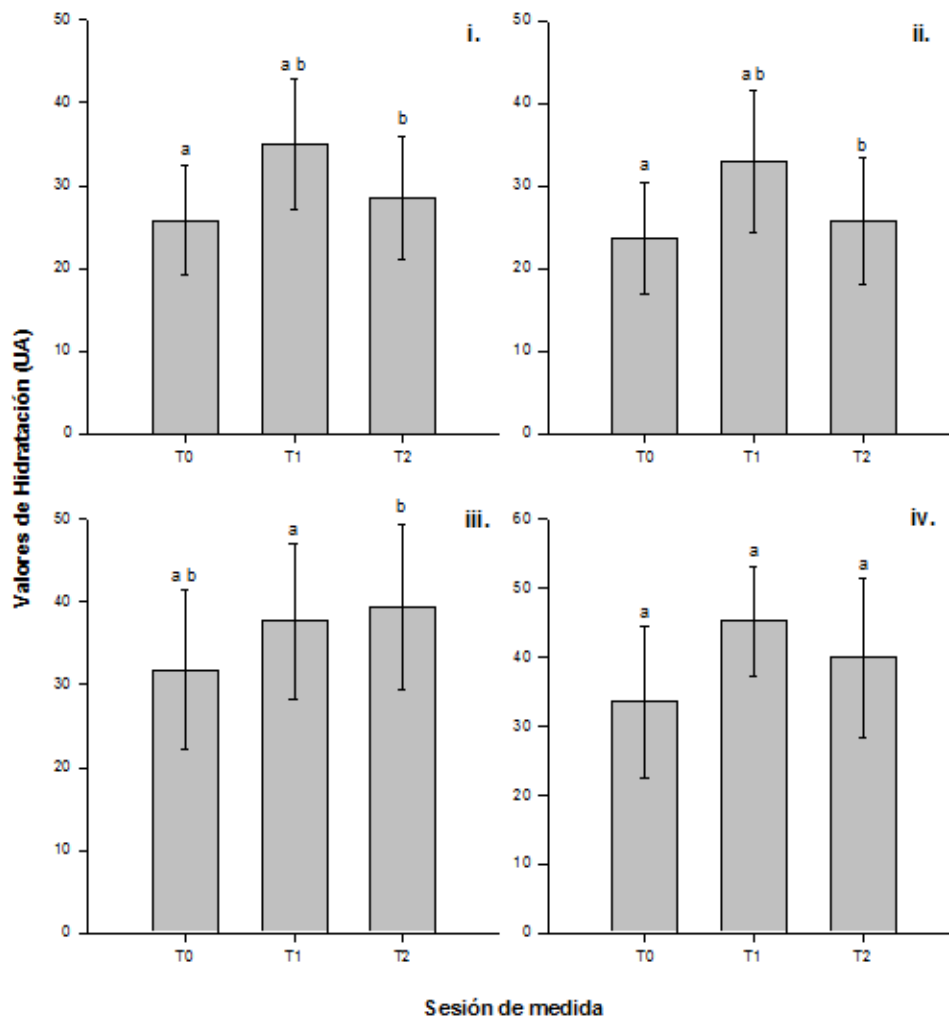


Fig. 9: Comportamiento de la Hidratación en cada una de las sesiones de medida (**T0**, **T1** y **T2**) para las 4 regiones faciales evaluadas: (i.) Mejilla izquierda, (ii.) Mejilla derecha, (iii.) Frente y (iv.) Mentón. La altura de la barra indica la media de los valores obtenidos a partir de las 21 voluntarias, y los corchetes representan un desvío estándar con respecto a la media. Las letras “a” y “b” indican entre qué sesiones de medida la diferencia entre las medias es estadísticamente significativa a $p < 0,05$.

En base a los porcentajes de cambios obtenidos con respecto T_0 , para aquellas comparaciones pareadas que resultaron ser estadísticamente distintas, se construyeron 15 categorías a cada una de las cuales le corresponde un determinado rango de porcentajes. Por ende, se realizaron seis histogramas (Figura 10), en cuatro de los cuales el porcentaje representado resulta de la diferencia entre T_0 y T_1 en cada una de las regiones faciales (Figuras 10a-c y 10e). Los dos histogramas restantes se

1	< -11 %	6	31,00 - 40,99 %	11	81,00 - 90,99 %
2	-10,99 - 0,99 %	7	41,00 - 50,99 %	12	91,00 - 100,99 %
3	1,00 - 10,99 %	8	51,00 - 60,99 %	13	101,00 - 110,99 %
4	11,00 - 20,99 %	9	61,00 - 70,99 %	14	111,00 - 120,99 %
5	21,00 - 30,99 %	10	71,00 - 80,99 %	15	> 121,00 %

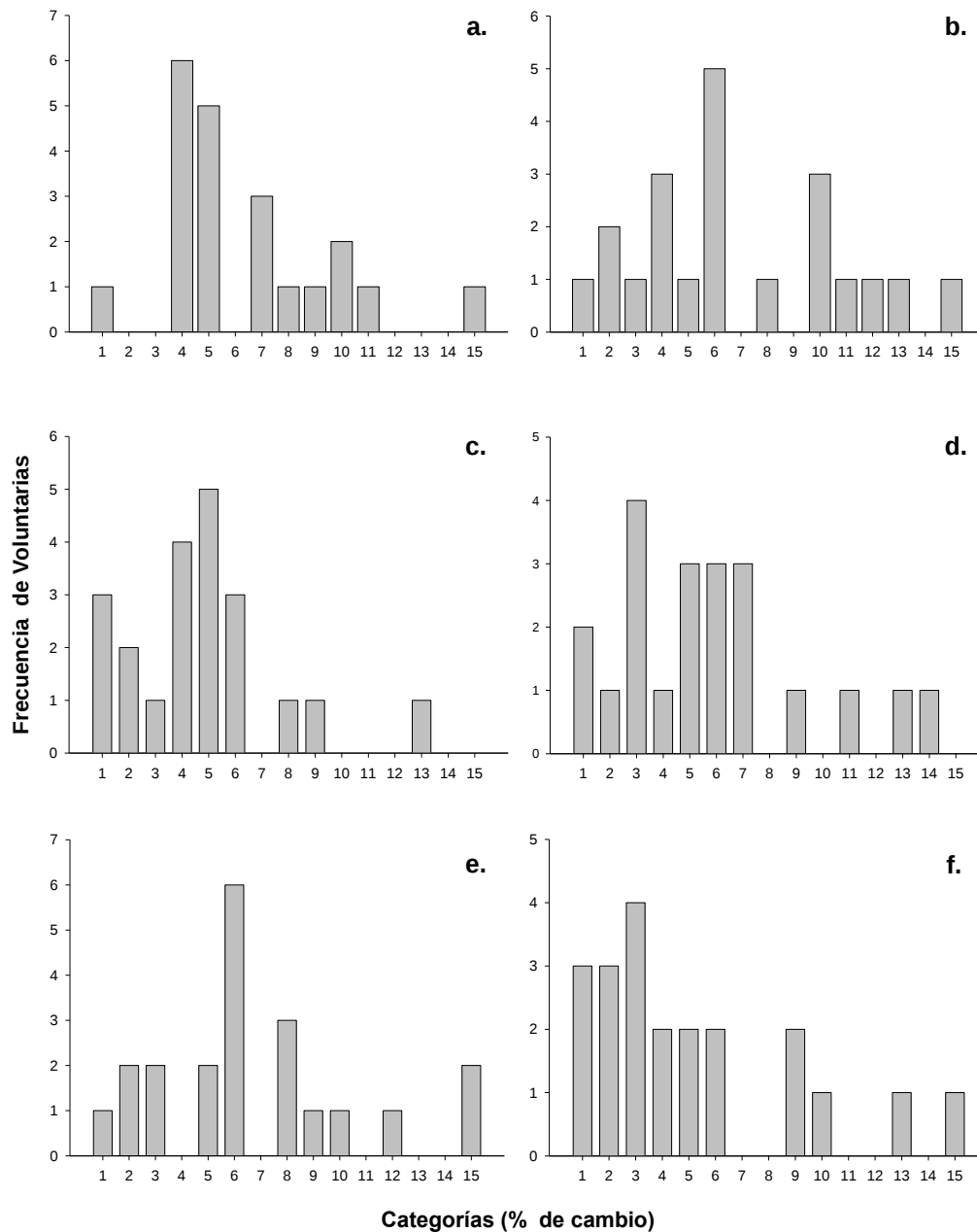


Fig. 10: Cantidad de sujetos de estudio incluidos en las 15 categorías representantes de un determinado rango de porcentaje de cambio (tabla), resultante de la diferencia entre los valores de Hidratación obtenidos en T_1 o T_2 con respecto a los de T_0 , calculada en cada región facial evaluada. Las figuras (a.) y (b.) corresponden a los rangos de porcentajes que reflejan las diferencias entre la sesión T_1 y T_0 para la mejilla izquierda y la derecha respectivamente, mientras que (c.) y (e.) muestran la diferencia entre dichas sesiones pero obtenidas para la frente y el mentón respectivamente. También se observan los porcentajes de cambio entre los valores estimados en T_2 con respecto a T_0 obtenidos para la frente (d.) y el mentón (f.).

efectuaron en base a las frecuencias observadas en cada categoría de los porcentajes de variación entre T_0 y T_2 para la frente (Figura 10d) y el mentón (Figura 10f).

En general, las mayores frecuencias de voluntarias se observaron en las categorías de porcentaje numeradas del 3 al 6, o sea, aquellas que abarcan desde el 1,00 al 40,99 %. Asimismo, en todos los histogramas se detectaron casos en los que el valor de la hidratación había aumentado más de un 100 % con respecto al inicio del estudio. A su vez, para los porcentajes de cambio entre T_0 y T_1 , en tres de las cuatro regiones evaluadas obtuvieron 3 participantes con porcentajes menores a cero, siendo la frente la región en la cual dicha comparación mostró la mayor frecuencia de peorías en estas sesiones.

Particularmente, en la mejilla izquierda (Figura 10a), la categoría con la frecuencia de participantes más alta fue la 4, mientras que para la otra mejilla fue la categoría 6 (Figura 10b). En esta última región, también se observan una mayor frecuencia de casos con porcentajes más altos, alcanzando un máximo de 153,81 %, mientras que el mayor porcentaje de cambio obtenido en la mejilla fue de 125,24 %.

En la región de la frente, se observa que una mayor cantidad de voluntarias obtuvo porcentajes de cambio más altos en T_2 que en T_1 , además de una menor cantidad de porcentajes de cambio menores a cero.

En el mentón, la diferencia obtenida entre la sesión T_0 y T_1 determinó la inclusión de 2 participantes en la categoría que abarca los mayores valores de porcentajes (Figura 10e). A su vez, una de dichas participantes adquirió el porcentaje de cambio más alto obtenido para la hidratación (164,81 %). Por otro lado, los porcentajes obtenidos de la diferencia entre T_0 y T_2 observaron la mayor frecuencia de valores menores a cero de los obtenidos para la hidratación (Figura 10f).

Pérdida transepidérmica de agua

Primordialmente, se observó que, en cada una de las sesiones de medida los valores medios de la TEWL seguían el mismo patrón en cuanto a que los valores más bajos eran los obtenidos en la mejilla izquierda, seguidos por aquellos estimados en la mejilla izquierda, luego los adquiridos a partir de la frente, siendo los más altos

aquellos observados en el mentón (Figura 11). A su vez, en tres de las regiones faciales evaluadas, el valor medio más alto ocurrió durante la sesión T₁, luego de la cual este descendía hasta adquirir valores levemente mayores a los obtenidos al inicio del estudio. Sin embargo, en la frente se observó un incremento progresivo desde el comienzo hacia el final de estudio, además de que la diferencia existente entre T₀ y T₂

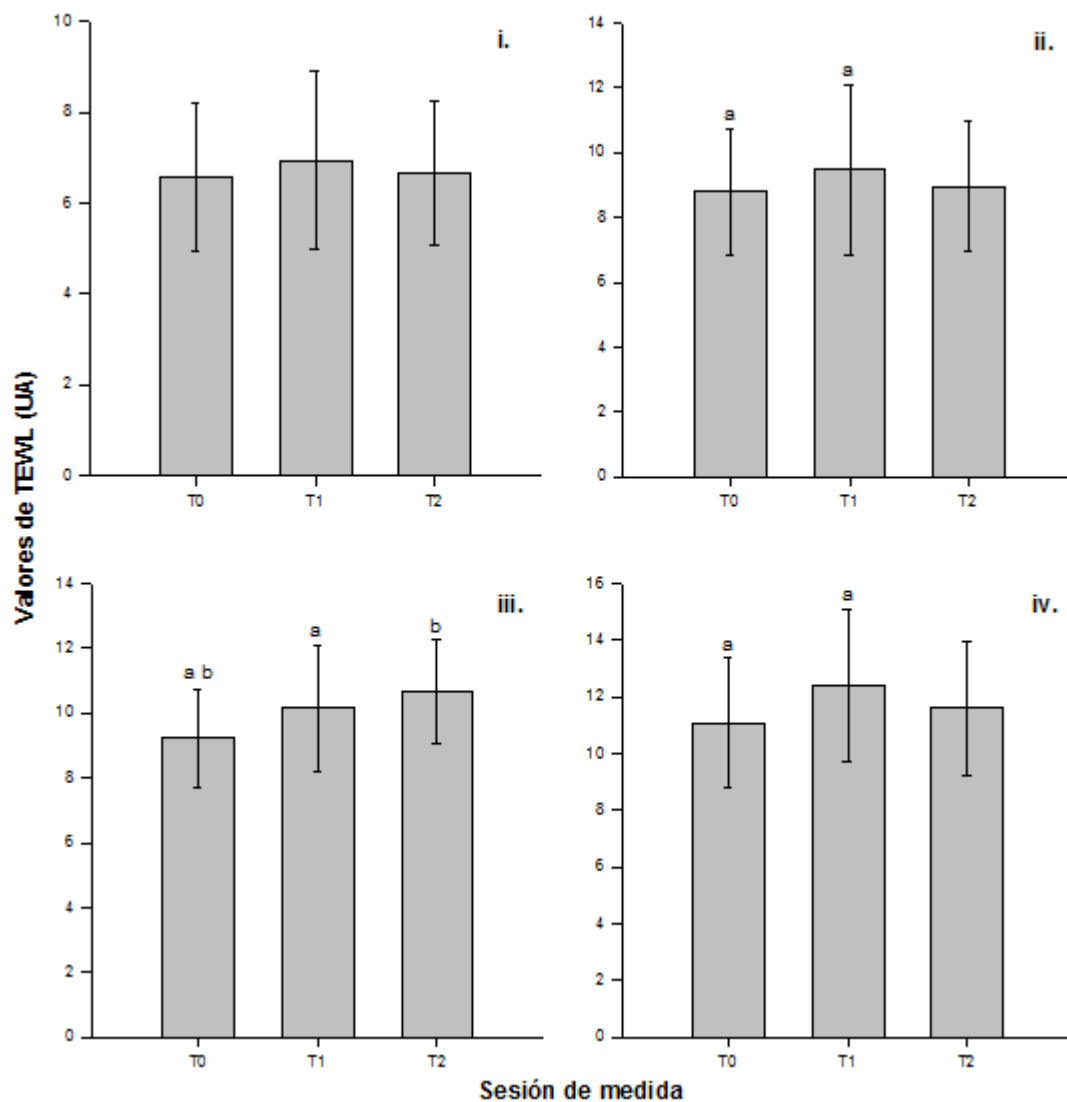


Fig. 11: Valores medios (altura de columnas) y desvío estándar (corchetes) obtenidos en cada instancia de evaluación (T0, T1 y T2) para la Pérdida transepidérmica de agua (TEWL, Transepidermic Water Loss) en las cuatro zonas del rostro valoradas (Mejilla izquierda (i.), Mejilla derecha (ii.), Frente (iii.) y Mentón (iv.)). Las letras “a” y “b” refieren a la existencia de diferencias significativas entre las medias de las correspondientes sesiones, obtenidas través de la comparación pareada con $p < 0,05$.

fue mayor a 1 UA, a diferencia de lo ocurrido en las otras zonas del rostro. De hecho, los valores medios de la TEWL obtenidos para ambas mejillas difieren entre las tres sesiones por menos de 1 UA.

El análisis estadístico reveló que en tres de las cuatro regiones evaluadas existe una diferencia significativa entre las medias de las sesiones T_0 y T_1 (Figura 11a-c), siendo la mejilla izquierda, la zona del rostro cuya comparación pareada de sesiones no mostró ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las medias de cada una de las instancias de evaluación.

1	< -11 %	6	31,00 - 40,99 %	11	81,00 - 90,99 %
2	-10,99 - 0,99 %	7	41,00 - 50,99 %	12	91,00 - 100,99 %
3	1,00 - 10,99 %	8	51,00 - 60,99 %	13	101,00 - 110,99 %
4	11,00 - 20,99 %	9	61,00 - 70,99 %	14	111,00 - 120,99 %
5	21,00 - 30,99 %	10	71,00 - 80,99 %	15	> 121,00 %

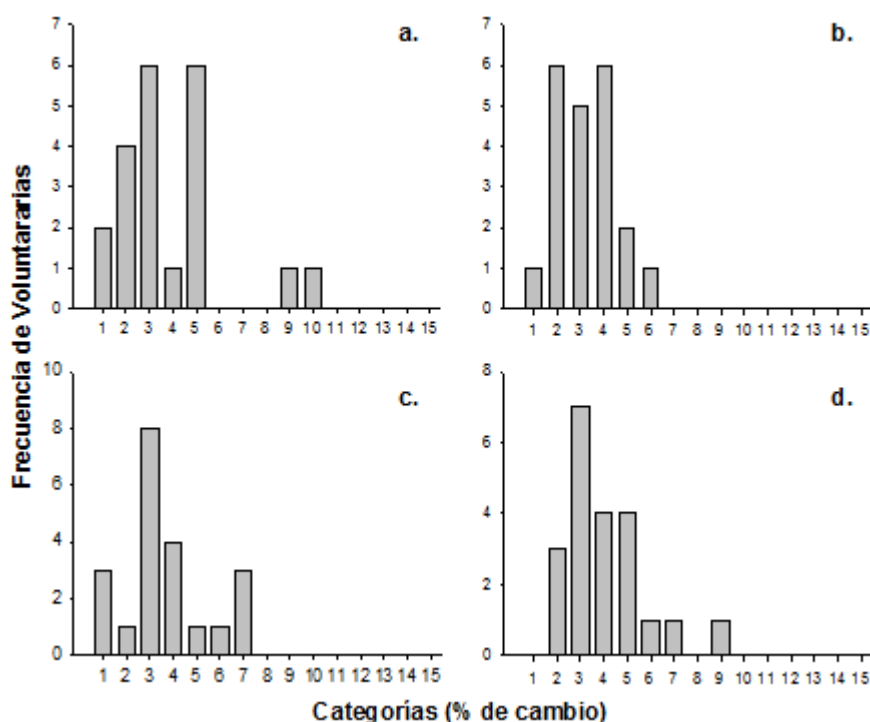


Fig. 12: Frecuencia de rangos de porcentajes obtenidos entre las participantes del estudio, a partir de la diferencia entre los valores de la Pérdida transepidérmica de agua estimados para: la sesión T_1 con respecto a T_0 en el mentón (a.), la mejilla derecha (b.) y la frente (c.), y en la sesión T_2 en relación a T_0 para la frente (d.). La correspondencia entre las categorías y los rangos de porcentajes se observan en la tabla de la derecha.

Por otro lado, en la frente también fue observada una significancia estadística al comparar la media obtenida para dicha región en la sesión T_0 con respecto a estimada en T_2 (Figura 11d). En relación a los porcentajes de cambio obtenidos de la diferencias entre dichas sesiones (Figura 12), se observó que un tercio de las voluntarias aumentaron sus valores de TEWL entre un 1,00 y 10,99 % al final del estudio. A su vez, el porcentaje de cambio más alto obtenido fue de 69,84 % y existieron 2 participantes en quienes sus valores de TEWL disminuyeron en un 10,31 y 9,09 %. Por otro lado, en cuanto a los porcentajes de variación entre la sesión T_1 y la T_0 , se observó que en 8 de las 21 participantes, dichos porcentajes se encontraban entre 1,00 y 10,99 %. Asimismo, se encontraron solamente 3 participantes en las que sus valores de TEWL disminuyeron con respecto a T_0 , y una voluntaria en la que dichos valores no variaron. El resto de las voluntarias mostraron incrementos en dichos valores de hasta un 47,62 %.

En referencia a los porcentajes de cambio estimados para en el mentón (Figura 12a), se observó que el 90,48% de las pacientes se encontraban incluidas en las categorías numeradas del 1 al 5. De hecho, 6 participantes obtuvieron un porcentaje de aumento entre 31,00 y 40,99 %, y en otras 6 voluntarias dicho porcentaje se mantuvo entre 1,00 y 10,99 %. Por último, la cantidad de pacientes en las que sus valores de TEWL disminuyeron fue 4, existiendo otras 2 voluntarias en quienes dichos valores permanecieron invariados de una sesión a otra.

Por su parte, los porcentajes de cambio obtenidos en la mejilla derecha van desde -42,11 a 32,88 %, por lo que la totalidad de las participantes fueron incluidas en las categorías del 1 al 6. En efecto, para 4 de las 21 pacientes se observó un descenso de sus valores de TEWL de la sesión T_0 a la T_1 , y en otras 3, dichos valores se mantuvieron constantes. El resto de los sujetos de estudio adquirió porcentajes de cambio entre 2,80 y 32,88 %.

Lípidos en superficie

En primer lugar, del análisis estadístico descriptivo se observa que las desviaciones estándar obtenidas en las tres sesiones de medida para cada zona evaluada del rostro, adquirieron valores considerablemente altos (Figura 13). De hecho, en tres de las

cuatro zonas evaluadas, se observa que el desvío estándar más grande ocurre durante la sesión inicial, y que solamente en la mejilla derecha, esto sucede durante la sesión T_2 .

Por otro lado, a lo largo de las tres sesiones de medida, los valores promedio más altos de los niveles lipídicos superficiales fueron estimados primeramente en la frente (Figura 13iii) y en segundo lugar, en el mentón (Figura 13iv). A su vez, en las cuatro regiones evaluadas se observa un descenso de los valores medios en la sesión T_1 con respecto al inicio del estudio.

En particular, en ambas mejillas (Figura 13i-ii) se observa no solo un incremento del

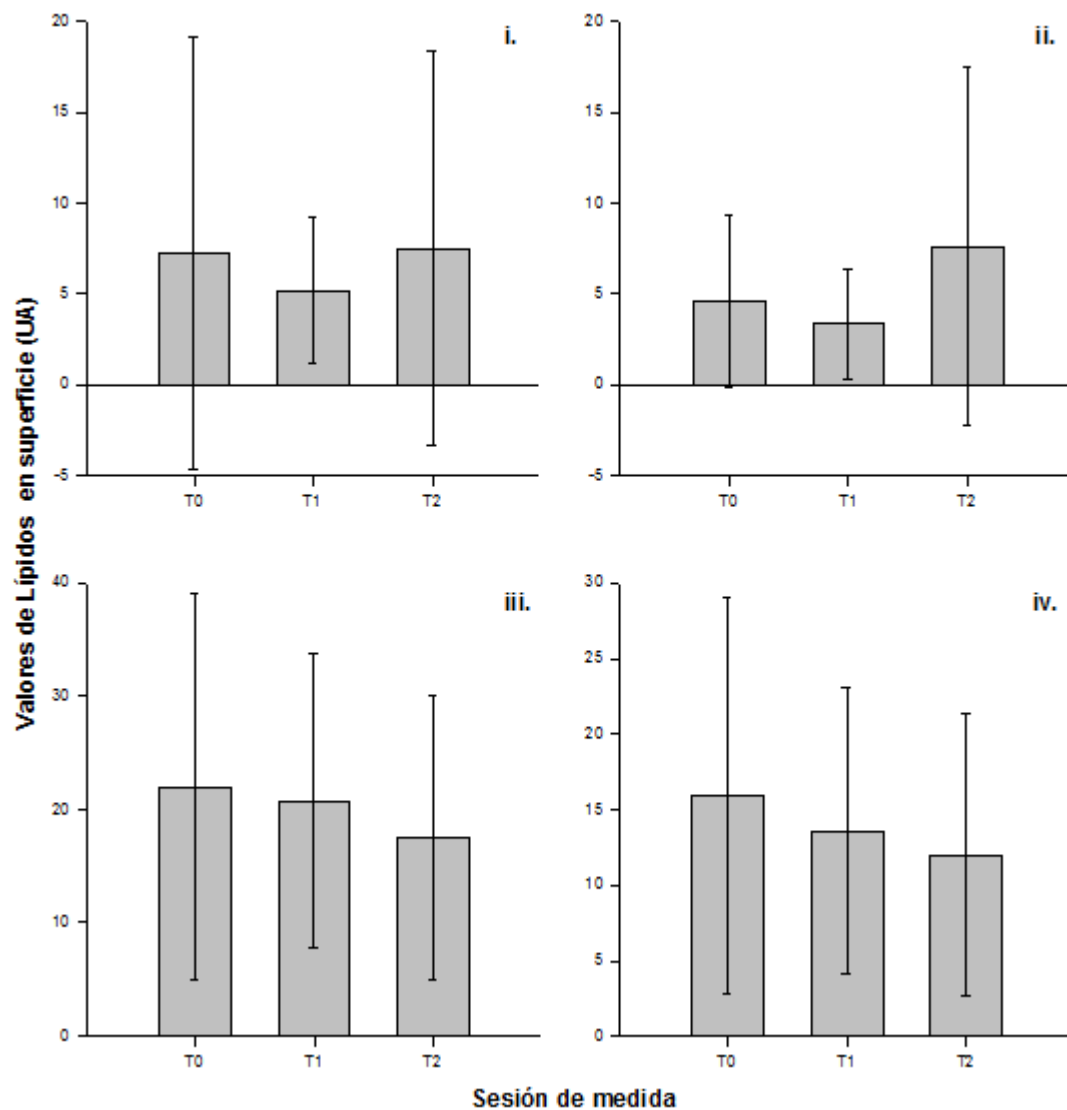


Fig. 13: Valores medios (altura de columnas) y desvío estándar (corchetes) estimados a partir de los Lípidos medidos en la superficie cutánea a lo largo de las tres sesiones del estudio (T0, T1 y T2) en la (i.) Mejilla izquierda, (ii.) Mejilla derecha, (iii.) Frente y (iv.) Mentón.

promedio de los lípidos superficiales en la sesión T₂ con respecto a T₁, sino también que al final del estudio dichos valores resultaron ser mayores que al comienzo del mismo, siendo dicha diferencia más notoria en la mejilla derecha que en la izquierda.

Las comparaciones pareadas entre las medias obtenidas para una misma región pero en distinta sesión, ya sea mediante la aplicación del Pair t-test como del Test de Wilcoxon, no observaron diferencia estadística alguna.

Elasticidad

Al comienzo del estudio, la región facial que obtuvo la media de mayor valor fue la frente con 65,61 %, seguida por la mejilla izquierda con una diferencia respecto a esta de menos de 1,00 %, luego la mejilla derecha (59,38 %), y por último el mentón

con 56,81 % (Figura 14). A su vez, estas dos últimas regiones fueron las que finalizaron el

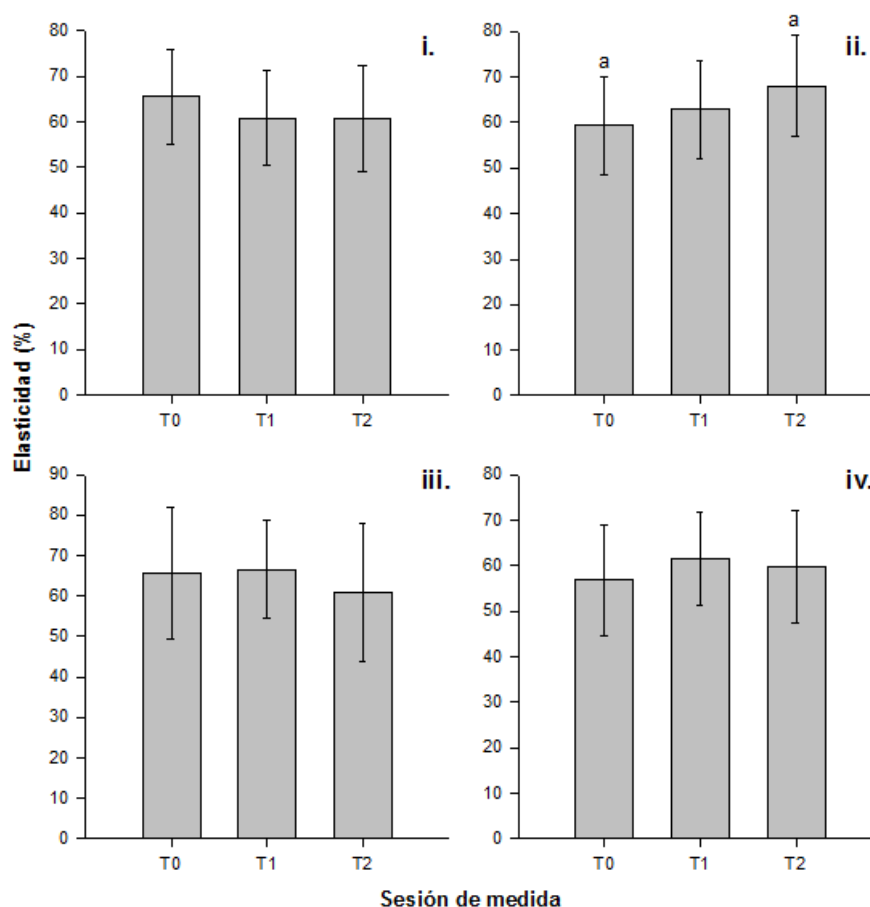


Fig. 14: Comportamiento de la Elasticidad durante las tres sesiones de medida (T0, T1 y T2) para las cuatro regiones faciales evaluadas (mejilla izquierda (i.), mejilla derecha (ii.), frente (iii.) y el mentón (iv.)). La media de los valores de Elasticidad estimados en cada sesión se encuentra representada por la altura de la columna correspondiente, y el desvío estándar con respecto a esta, se muestra con los corchetes. La letra “a” es un indicativo de la diferencia estadísticamente significativa existente entre las medias estimadas para las sesiones T0 y T2 en la mejilla derecha.

estudio con un valor promedio mayor que el obtenido en la sesión T₀. Por otro lado,

en tres de las cuatro zonas del rostro analizadas (mejilla derecha, mentón y frente), se observó un incremento en el valor de la media en la sesión T_1 con respecto a la sesión T_0 .

Por su parte, los promedios computados para la mejilla izquierda (Figura 14i) adquieren su valor más alto en la sesión inicial, luego de la cual descienden, primero a 60,79 % en T_1 y luego a 60,61 % en T_2 .

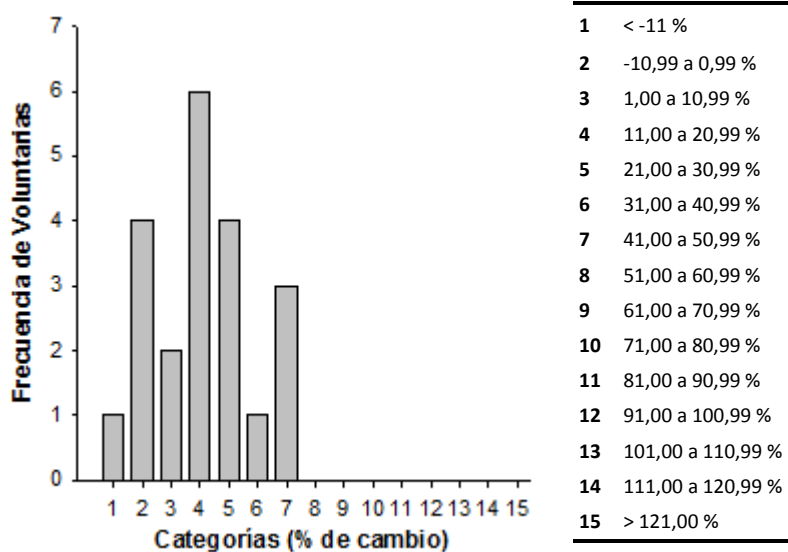


Fig. 15: Distribución de las voluntarias en las diferentes categorías de porcentajes de cambio (tabla) resultantes de la diferencia entre los valores obtenidos de la Elasticidad en la sesiones T_0 y T_2 para la mejilla derecha.

Para el caso de la frente (Figura 14iii), pese al leve aumento del valor promedio existente en la sesión T_1 con respecto al inicio del estudio, la media obtenida durante la sesión T_2 también resultó ser menor que la calculada a partir de los datos recabados en T_0 . Sin embargo, en el mentón, si bien también

ocurre este último descenso, dicha región no finaliza el estudio con un valor promedio menor a como lo comenzó.

La mejilla derecha (Figura 14ii), es la única de las regiones faciales evaluadas cuyo promedio de elasticidad describe una tendencia creciente a lo largo del estudio. En efecto, el análisis comparativo entre los valores medios de cada sesión revela que existe una diferencia estadística entre la sesión T_0 y T_2 . El cálculo de los porcentajes de cambio entre dichas sesiones (Figura 15), muestra que dichos valores abarcan un rango de -12,40 a 45,32 %, de manera que se incluyen en las categorías numeradas del 1 al 7. A su vez, se observa que en 5 participantes se detectó una disminución en los valores de la elasticidad de dicha zona, mientras que en el resto de las voluntarias dichos valores aumentaron, adquiriendo mayormente valores entre el 11,00 y 20,99 %.

Discusión

Cuestionarios

En base a las respuestas de las voluntarias, se observa no solo que estas se mostraron conformes con las características del producto a testear, sino que también, la mayoría de estas dijo percibir ciertos cambios en distintas características de su rostro. Dichas modificaciones en general adquirieron una connotación positiva, ya que si bien hubo una mención negativa, en gran parte de las preguntas las frecuencias de respuestas más altas, ocurrían para aquellas que indicaban una mejoría al menos leve en ciertos aspectos del rostro de las participantes (Figuras 5 y 6). De hecho, existieron también quienes reportaron que dichos aspectos habían mejorado considerablemente en su rostro con respecto al inicio del estudio.

Conjuntamente, el hecho que la mayoría de los sujetos de estudio lograra percibir modificaciones en ciertos aspectos de su rostro, independientemente de qué tipo, se desprende también de que, la máxima proporción de voluntarias en estipular que cierta característica se mantuvo invariada pese a la utilización de la crema, fue el 23,81%.

Por otra parte, en cuanto a la posibilidad de que la crema produjese algún tipo de molestias o irritación, los resultados concuerdan con lo esperado según el test de Parche realizado previo al estudio, ya que ninguna de las voluntarias manifestó padecer síntomas o signos indicativos de estas.

La pregunta del cuestionario referida a cómo cada voluntaria percibe la humectación de su piel desde que comenzó a utilizar la crema, recibió fundamentalmente manifestaciones de mejorías en dicho aspecto, producto de que 20 de las 21 voluntarias apreciaron un incremento en la humectación cutánea de su rostro. No obstante, si bien ninguna participante estableció no percibir cambios en este aspecto, hubo una participante que expresó que su piel se encontraba más seca desde que utiliza la crema (Figura 5A). Cabe resaltar que, al cuestionar a dicha participante sobre la sensación post-aplicación del producto, esta respondió que percibía su cutis igual que antes de aplicar la crema, y no que dicha sensación fuese de tirantez y sequedad,

lo cual resulta contradictorio con su respuesta anterior acerca de sentir su piel más seca. Por otro lado, al observar los valores obtenidos para la hidratación de su piel al final del estudio, se advirtió que estos no habían sufrido grandes cambios, ya que en tres de las cuatro regiones faciales evaluadas los porcentajes de incremento con respecto a T_0 fueron muy bajos, con un valor máximo de 10,00 %, existiendo además una disminución en el valor de la hidratación de su mejilla derecha de un 17,93 %. Por tanto, podría establecerse que para el caso de dicha voluntaria, la hidratación proporcionada por la crema no fue lo suficiente como para que esta percibiese una mejoría. Sin embargo, los valores de hidratación obtenidos para dicha participante, no manifiestan una disminución general de estos valores sino más bien una perpetuación del estado inicial, lo cual concuerda con el hecho de que la participante no percibiese su rostro distinto luego de aplicada la crema.

En relación al cuestionamiento acerca de posibles cambios que las participantes hubiesen observado acerca de las arrugas de su rostro, se advirtió que la amplia mayoría de los sujetos de estudio habían observado mejorías en este aspecto (Figura 5B). La mayor parte de ellos, establecieron que dicha mejoría radicaba en la disminución de la profundidad de sus arrugas, más no en la cantidad de estas. Pese a esto, casi un tercio del total de participantes, reportaron que sí habían percibido una reducción tanto en el número como en la severidad de sus arrugas faciales. Consecuentemente, las disposiciones de las voluntarias estarían reflejando que, si bien la crema mejora el aspecto de las arrugas al reducir la profundidad, y por tanto, la severidad de las mismas, en la mayoría de los casos en los que la utilización de la crema resultó en una mejoría de dichas líneas, ésta no fue tan radical ya que no logró eliminarlas visiblemente.

El hecho de que el 76, 10 % de las voluntarias haya logrado observar una mejoría a nivel de sus arrugas, se encuentra fuertemente relacionado con los resultados obtenidos al cuestionar a cada una de ellas, acerca de potenciales modificaciones en la firmeza de su rostro. Esto se debe a la evidente correlación existente entre las propiedades mecánicas de la piel y el establecimiento de las arrugas, en la cual la formación de arrugas permanentes que resulten de las expresiones faciales será menor cuanto más óptimo sea el estado de la elasticidad y distensibilidad cutánea.

(Fisher, 2005; Bilodeau & Lacasse, 2008). En particular, el 95,24 % de los sujetos de estudio expresó que había observado mejorías en la firmeza de su cutis, si bien solamente 1 de estos sujetos estableció que dicha propiedad había mejorado considerablemente en su rostro. A su vez, resulta coherente que la cantidad de participantes que observaron mejorías en la firmeza de su rostro, sea mayor que la que estableció una reducción en la severidad y/o número de arrugas, ya que no necesariamente una mejoría en las propiedades elásticas implica una disminución en la profundidad de las arrugas, debido a que en la reversión de dicho proceso se encuentran también implicados otros factores (Rona, Vailati, & Berardesca, 2004; Castelo-Branco et al, 2005). De hecho, por la poca cantidad de voluntarias que expresó que su elasticidad habría mejorado considerablemente, se esperaría una menor proporción de participantes capaces de apreciar una mejora a nivel de sus arrugas faciales, que las efectivamente se observaron en el estudio. Asimismo, la cantidad de participantes que no observaron cambios en ambas preguntas estaría también respaldando dicha disposición, puesto que esta proporción es mayor para la pregunta relacionada a las arrugas del rostro que para aquella referente a la firmeza. Por consiguiente, pese a que hubo más voluntarias que observaron cambios en su elasticidad, no todas estas lograron percibir mejoras en sus arrugas.

La sensación percibida por las voluntarias una vez que aplican la crema en su rostro, fue determinada por una amplia mayoría de ellas, como “Más suave y tersa” (Figura 5E). Dicha disposición, se encuentra en concordancia con lo previamente establecido por las participantes en cuanto a los cambios en la sensación de humectación de su rostro desde que utilizan el producto. Esto se debe a que desde el punto de vista estético, la humectación de la piel posee la finalidad de otorgar un aspecto suave, flexible, radiante y saludable (Appa, 2010). Consecuentemente, una piel debidamente humectada se percibirá más suave que las pieles secas, entre otras cosas, mientras que estas últimas exhibirán una apariencia más opaca, reseca y áspera, pudiendo incluso experimentar distintos tipos de malestar (Appa, 2010). Por este motivo, resulta congruente que la gran mayoría de las participantes que advirtieron mejorías en la humectación de su piel, también hayan percibido su piel más suave y tersa.

Por otro lado, también se reportaron casos en los que la aplicación de la crema producía una sensación de excesiva grasitud, o bien que no se percibía ningún cambio en dicho aspecto. Teniendo en cuenta que dichos reportes conforman una pequeña proporción del total de sujetos de estudio (14,29 %), es lógico considerar que dicha sensación era producto del biotipo cutáneo de las participantes, los cuales probablemente fuesen grasos y secos respectivamente.

En lo que respecta a las posibles modificaciones que las participantes observaron en cuanto a la luminosidad y el aspecto general del rostro, puede establecerse que la amplia mayoría de las mismas se mostraron complacidas con las mejoras producidas por la crema (Figura 5D y 5E). La coincidencia en dichas respuestas resulta comprensible puesto que la apariencia general del rostro depende de varios factores, entre los que se encuentran la luminosidad y la presencia de arrugas (Graf, 2005). De hecho, la apariencia de la piel resulta de la reflexión, dispersión y absorción de la luz ocurrida en las distintas capas de la piel (Jiang & DeLaCruz, 2011). A su vez, la humectación de la piel promueve la reducción de la heterogeneidad óptica, logrando que la piel se vea más translúcida, suave y menos opaca (Jiang & DeLaCruz, 2011). Por ende, la existente relación entre la humectación, luminosidad y el aspecto general de la piel, se ve evidenciada en parte, por las percepciones de las voluntarias, ya que los resultados indican que una proporción considerable de ellas advirtió mejorías en estas tres características.

Las características de la crema, fueron a su vez bien recibidas por las participantes del estudio (Figura 6). Particularmente, la mayoría de las voluntarias calificó tanto el aspecto, fragancia y la aplicación de la crema como “Buena”, e incluso hubo quienes consideraron estas características como “Excelentes”. La aprobación de dichas características por parte de las usuarias, constituye un factor muy importante debido a que el rostro es una de las áreas más sensibles del cuerpo, de manera que los cosméticos a aplicarse en esta región deberán poseer cualidades sensoriales agradables (Appa, 2010). En efecto, dichas características son factores determinantes para la conformidad del usuario, ya que si no les agrada el aspecto, el olor o incluso la sensación al aplicar el producto, no van a continuar utilizándolo adecuadamente (Palefsky, 2010).

Por último, la totalidad de las voluntarias estableció que en base a su experiencia como usuarias del producto, recomendarían la utilización del mismo. En relación a la efectividad de la crema para atenuar las arrugas, se observó que de las 5 voluntarias que optaron por responder negativamente a esta pregunta, 4 de ellas también habían establecido previamente que la utilización de la crema no había producido cambios en dichas líneas. No obstante, la persona restante que estableció que la crema no le fue efectiva para dicho fin, anteriormente había expresado que tanto la cantidad como la profundidad de sus arrugas habían disminuido. A su vez, otra participante que dijo no percibir cambios en sus arrugas, aunque a posteriori respondió positivamente acerca de la efectividad de la crema en dicho aspecto. Ambos casos constituyen respuestas incoherentes, que pueden ser producto de la incompreensión de las preguntas, falta de atención al responder o incluso de una dificultad para recordar, por ejemplo, cómo lucían efectivamente sus arrugas antes de comenzar el estudio (McDaniel & Gates, 2005).

Es importante recalcar, que en la obtención de información mediante encuestas se pueden advertir a menudo ciertos tipos de errores que pueden causar un sesgo de la muestra (Zikmund & Babin, 2009). Entre estos, se encuentra el error de selección de muestra y el sesgo de respuesta. El primero de estos, refiere a la posibilidad de que la muestra elegida para el cuestionario no sea lo suficientemente representativa (Zikmund & Babin, 2009). Este tipo de error podría estar influenciando los resultados del cuestionario realizado en el presente estudio, puesto que la muestra elegida para ello no es demasiado grande. Por otro lado, el sesgo en la respuesta sugiere una posible tendencia de los encuestados a que estos respondan de determinada manera (McDaniel & Gates, 2005; Zikmund & Babin, 2009). Dicho error abarca a su vez, distintos tipos de sesgos, entre los que se encuentra el sesgo del asentimiento, el cual establece que, la idea de un nuevo producto suele suscitar connotaciones positivas entre los entrevistados, y que los encuestados podrían tender a estar de acuerdo con todas las preguntas o a tener una determinada postura. Teniendo en cuenta que la mayoría de las percepciones observadas fueron positivas, y que la crema en sí misma constituye un producto nuevo, podría establecerse que dicho sesgo está afectando las respuestas de dicho cuestionario. Otro de los sesgos de respuesta, es aquel que refiere

a la deseabilidad social, en donde el encuestado desea crear determinada impresión favorable o simplemente “quedar bien” con el entrevistador (Zikmund & Babin, 2009). Esto pudo haber perjudicado los resultados obtenidos, debido a que quizás las voluntarias inconscientemente intentaban favorecer los resultados a modo de mostrar su gratitud por haberlas incluido en el estudio.

Por estos y otros motivos, es que la veracidad de los cuestionarios muchas veces se ve comprometida. Por lo tanto, si bien estos constituyen una forma de ponderar las percepciones individuales de cada usuaria, además de un mecanismo útil para determinar la presencia de cambios observables a simple vista que resulten de la utilización del producto, la información que de estos se deprenda, deberá ser considerada como un complemento de la evidencia objetiva. La subjetividad inherente incluida en los cuestionarios, hace que, jerárquicamente, la significación de dicha información no deba adquirir un mayor valor que aquella obtenida de manera objetiva.

Fotografías

A partir de las evaluaciones fotográficas, se observa que la mayor parte de las arrugas valoradas poseían un nivel de severidad moderada, y que los grados más extremos (0 y 4), calificaron a la minoría de estas (Figura 7 y 8).

Para la mayoría de los sujetos de estudio, en un mismo individuo fueron advertidos distintos grados de severidad para las diferentes arrugas evaluadas. Esto podría explicarse en base al hecho de que la reiteración de movimientos musculares o articulares al realizar expresiones faciales, que son propias de cada individuo (Rona, Vailati & Berardesca, 2004), en conjunción con otros aspectos de su estilo de vida, como lo es la posición al dormir (Farage et al, 2008), producirán un efecto diferencial en la formación de arrugas. Por lo tanto, es de esperar que determinadas líneas se encuentren más marcadas que otras, independientemente de la edad de la persona.

La cantidad de participantes en las que se observaron mejorías en al menos en uno de los grupos de arrugas evaluadas, fue menor que el número de estas que en el cuestionario dijo percibir cambios en las arrugas de su rostro. A su vez, de las 13 participantes que observaron mejorías según las escalas fotográficas, se advirtió que 3

de estas, habían respondido en los cuestionarios que no percibían cambios en las arrugas de su rostro y que la crema no les había resultado efectiva en atenuarlas. Dichas situaciones podría deberse principalmente a los siguientes factores. Primeramente, las voluntarias basan su percepción del cambio en sus arrugas, en la observación directa de sí mismas, mientras que la evaluación objetiva se realizó mediante la comparación fotográfica. Por consiguiente, esta disparidad puede llevar a que se realicen apreciaciones distintas en cuanto a los resultados obtenidos, fundamentalmente porque la observación directa puede ser más precisa para determinar el nivel de severidad de una arruga, que la realizada mediante una fotografía. Esto es causa de la existencia de varios factores, como la luz y la posición al momento de tomar la fotografía, que por más que se intenten estandarizar al máximo, igualmente podrían dar impresiones inexactas. No obstante, el análisis fotográfico resulta más efectivo al momento de realizar comparaciones con respecto a estados anteriores de las arrugas. En segundo lugar, se encuentra el hecho de que la evaluación fotográfica, solo está ponderando 4 grupos de arrugas. Por lo que, las líneas en las que el paciente percibió la mejoras pueden haber quedado por fuera del análisis fotográfico si no formaban parte de dichos grupos. De ser este el caso, no se estaría observando una contradicción entre los resultados del cuestionario y aquellos resultantes del análisis fotográfico, sino que simplemente las mejorías observadas fueron en grupos de arrugas no ponderadas por las escalas fotográficas utilizadas. Sin embargo, también existe la posibilidad de que, tal como se menciona anteriormente, las respuestas de las participantes se encuentren sesgadas, y no reflejen lo que efectivamente han percibido. Por último, la contradicción entre ambos tipos de información también podría resultar de la diferencia entre lo que participantes consideran como una disminución en la severidad de las arrugas, con respecto a lo que las escalas fotográficas establecen como tal. De manera que, podría ocurrir que la disminución en la profundidad de las arrugas percibida por las participantes, puede no ser lo suficientemente intensa como para dichas arrugas disminuya al menos un grado en la escala de severidad.

Por otra parte, teniendo en cuenta que la mayor parte de las arrugas fueron catalogadas como de severidad media, es razonable que la proporción más grande de

los casos de mejoras haya ocurrido en arrugas con estos niveles de severidad, simplemente porque dichos grados se encuentran mayormente representados en la muestra.

En lo que respecta a los grados de severidad en los que se produjeron el resto de las mejorías, se observó que existieron casos en los que la reducción de dicho nivel alcanzó el 0 de la escala, lo cual estaría indicando que la arruga en particular ya no es observable a simple vista con la metodología utilizada. Dicha cuestión, estaría en concordancia con el hecho de que algunas voluntarias expresaron mediante el cuestionario que tanto el número como la profundidad de sus arrugas había desaparecido. No obstante, la cantidad de voluntarias que hicieron dicha apreciación fue mayor que en las que sus arrugas fueron calificadas como de nivel 0. Esto puede deberse, al igual que como se menciona anteriormente, a un posible sesgo de respuesta en los resultados del cuestionario, o a que, las arrugas en las cuales las voluntarias observaron dicha atenuación, no se encontraban evaluadas por las escalas utilizadas en el estudio.

Por otro lado, la existencia de mejorías en la severidad de la arrugas según las escalas fotográficas, estaría avalando objetivamente el hecho de que existieron mejoras observables en las arrugas de las voluntarias. Por tal motivo, resulta pertinente que las propias voluntarias las hayan observado también, si bien las proporciones de voluntarias involucradas en una y otra situación no coinciden.

A su vez, debido a que cada grado de las escalas utilizadas se diferencia clínicamente de los niveles adyacentes, el hecho de el grado de cierto grupo de arrugas haya disminuido 1 nivel al finalizar el estudio, implica que esta es visiblemente distinta en comparación con el comienzo del mismo (Day et al, 2004; Carruthers & Carruthers, 2010). Para un tratamiento exclusivamente tópico, este tipo de resultados no siempre son observados, ya que existen un sinnúmero de factores influenciando a las manifestaciones clínicas del envejecimiento, por lo que es muy difícil que un solo producto antiage pueda tratarlas a todas (Clarys & Barel, 2009). Por lo tanto, es de esperar que, de ocurrir una mejoría clínicamente observable, esta difícilmente sea tal, que se traduzca en la disminución de 2 grados de alguna de las escalas utilizadas.

En lo que respecta a la relación de los resultados obtenidos a partir del análisis fotográfico y la edad de las voluntarias (Tabla 9), a diferencia de señalado en otros estudios (Jae et al, 2012), para la mayorías de los grupos de arrugas, no se advirtió una correlación estadísticamente significativa entre la severidad de todas las arrugas evaluadas y la edad de las participantes. Sin embargo, sí se observó que el menor grado de severidad, o sea el 0, fue observado solamente en aquellas participantes entre los 40 y 46 años de edad, además de que el grado de severidad promedio en participantes de hasta 50 años, fue el 2. Pese a esto, se detectaron casos en voluntarias de 48 y 49 años con niveles de severidad de 4 en todas las escalas excepto la que evaluó las líneas marioneta. A su vez, de las 4 participantes en las que se observaron mejorías en 2 grupos de arugas distintas, 3 de estas se encontraban entre los 48 y 58 años, si bien la severidad de estas arrugas era leve.

Las particularidades recientemente señaladas que difieren de lo esperado, en conjunción con la baja y diferencial cantidad de participantes que integran cada uno de los rangos etarios, hacen que no sea posible establecer efectivamente una tendencia al aumento de la severidad de todas las arrugas a medida que incrementa la edad de la persona. Por tanto, los resultados obtenidos solamente permiten establecer que la severidad de las líneas marioneta sí aumenta con el paso de los años.

Sin embargo, teniendo en cuenta la progresión que ocurre con el paso del tiempo de las alteraciones anatómicas subyacentes a la formación de arrugas faciales (Friedman, 2005; Albert, Rikanek & Patterson, 2007), sí se debería poder establecer cierta relación entre la severidad de algunas arrugas y la edad de la voluntaria. De manera que, se esperaría que las participantes ente los 40 y 49 años, obtuviesen grados de severidad entre 1 y 2 para las patas de gallo, y entre 0 y 1 para las líneas marioneta, siendo las líneas de la frente y los pliegues nasolabiales, los grupos de arrugas evaluadas que deberían presentar los mayores grados de severidad. Por su parte, en las voluntarias entre 50 y 58 años, es de esperar que todos los grupos de arrugas ponderadas posean un grado de severidad importante, entre las cuales las líneas marioneta presentarían grados un poco más leves, puesto que comienzan a evidenciarse temporalmente después que el resto de los grupos de arrugas evaluadas (Friedman, 2005). A su vez,

solo se esperarían grados de severidad 0 al calificar a las líneas marioneta para las pacientes entre 40 y 49 años.

En cuanto a los pliegues nasolabiales, los resultados concuerdan con lo esperado en el sentido de que ambos grupos etarios la mayor parte de las arrugas fueron de nivel de severidad 2 o 3, existiendo una mayor proporción de arrugas catalogadas como de nivel 3 en el grupo de participantes entre 50 y 59 años. Sin embargo, también se advirtieron resultados que se contradicen con lo anteriormente presupuesto, ya que si bien se observó un caso de severidad máxima, este ocurrió en una participante de 49 años, y a su vez, entre las participantes cuyos pliegues poseían un grado de severidad leve, la mayoría de estas pertenecían al grupo de más edad (Tabla 9).

Las líneas marioneta, por otro lado, se acercaron considerablemente a lo esperado, ya que si bien en el primer grupo etario considerado, la mayoría fueron calificadas como de grado 1 o 2, existió un caso en la cual dichas líneas no eran perceptibles. El grupo de participantes entre 50 y 58 años, también coincidió con lo esperado al presentar más calificaciones que indicasen una mayor severidad de arrugas, pero sin llegar a adquirir el grado más alto de la escala.

Los resultados muestran que las patas de gallo en las participantes entre 40 y 49 años si bien fueron calificadas principalmente acordes a lo esperado, no se observó un incremento en la severidad de dichas arrugas en el grupo de participantes de más edad. De hecho, la misma cantidad de participantes de uno y otro grupo etario obtuvo calificación 1 o 2 en dichas arrugas, aunque los grados de severidad altos fueron más frecuentes dentro en el primer rango etario, y no en el grupo de voluntarias de más edad. Por tanto, pese a que la mayoría de las participantes más jóvenes obtuvieron la calificación esperada, la supuesta progresión en la severidad de dichas arrugas ocurrida en las participantes de mayor edad, no fue observada (Tabla 9).

Las líneas de la frente, fueron uno de los grupos de arrugas que obtuvieron la mayor cantidad de casos con nivel de severidad máximo, siendo dicha cantidad superior para el grupo de voluntarias de mayor edad. A su vez, fue posible advertir que en general las arrugas de las participantes entre 50 y 58 años eran más prominentes que las del otro grupo etario, todo lo cual se corresponde con lo esperado según la progresión en la severidad de arrugas. Sin embargo, contrariamente a lo presupuesto, dichas líneas

también fueron el grupo de arrugas evaluadas con la mayor cantidad de casos con grados de severidad 0 (Tabla 9).

En cualquiera de los grupos evaluados, las diferencias con lo supuesto en base a la generalización sobre la ocurrencia temporal de las modificaciones faciales, podría explicarse en base a la multicausalidad del proceso involutivo, lo cual abarca la influencia de ciertos factores externos en conjunción con las características innatas de cada individuo (Albert, Rikanek & Patterson, 2007), tales como el grosor del tejido subcutáneo y los músculos subyacentes (Ezure, 2009). Por tanto, las infinitas combinaciones de ambos, podrán resultar en expresiones clínicas diferenciales. Desafortunadamente, el grado de influencia de dichos factores no fue evaluada en este estudio, por lo que no es posible determinar con exactitud, a qué se deben las diferencias con respecto a lo esperado.

Por otra parte, cabe resaltar que el pequeño tamaño de la muestra evaluada en conjunción con la posibilidad de que esta pudo no ser lo suficientemente representativa de los valores ocurridos efectivamente en la población, pueden haber sido motivo de la disparidad entre los resultados obtenidos y los esperados según la sucesión de alteraciones propuestas para cada rango etario.

En relación a los cambios obtenidos en cada escala por separado, se observó que los pliegues nasolabiales evaluados constituían mayormente un rasgo facial evidente o bien prominentes en los rostros de las voluntarias (Figura 7). No obstante, un tercio de los participantes observaron mejorías en el aspecto de dichas líneas, las cuales se produjeron principalmente en arrugas que inicialmente habían sido calificadas como de nivel 3 o 2. Por tal motivo, es plausible establecer que la crema logró producir mejoras en el aspecto de dichas líneas pese a que poseían una severidad considerable.

Las líneas marionetas, si bien en general constituían un rasgo primordialmente evidente o leve en las participantes, resultaron ser el grupo de arrugas con menor cantidad de casos de severidad significativa, ya que en general los niveles más altos de la escala fueron los menos frecuentes. Asimismo, también fue el grupo de arrugas evaluado en el que la mayor proporción de estas logró dejar de ser perceptible a simple vista (Figura 7).

Desde el punto de vista anatómico, se observa que con el pasaje del tiempo, las prominencias de tejido blando de la región facial media descienden exponiendo el borde lateral e inferior de los orbitales, haciendo más profundos los surcos nasolabiales (Friedman, 2005). Por otra parte, una de las remodelaciones del esqueleto cráneo facial en el envejecimiento, es el incremento en el tamaño de las órbitas y la reducción de la maxila (Zimblar, Kokoska & Thomas, 2001). Este proceso hace que exista menos espacio para el tejido subyacente, resultando en el desplazamiento inferior del tejido adiposo de la mejilla y de la piel en general, haciendo más profundos los pliegues melometales, cuya formación inicial es producto de las contracciones combinadas de los músculos cigomáticos mayor y menor (Zimblar, Kokoska, & Thomas, 2001). Por consiguiente, como la formación de estos tipos de arrugas involucra a grandes rasgos, estructuras o eventos similares, podría suponerse cierto vínculo entre ambas. De hecho, teniendo en cuenta dicha relación anatómica en conjunción con la secuencia de eventos en el tiempo, podría esperarse que la severidad en estas arrugas fuese ligeramente mayor en los pliegues nasolabiales. En efecto, los resultados obtenidos cuadran en lo esperado, ya que 13 de las 21 participantes observaron una severidad mayor en los pliegues nasolabiales, y en 9 de estas, dicha diferencia fue de solo 1 grado de severidad. Asimismo, podría esperarse cierta coincidencia en las mejorías ocurridas para dichos grupos de arrugas, aunque esto sería claramente más evidente si el tratamiento seleccionado para dichas líneas fuese una intervención quirúrgica. No obstante, de los 4 casos de participantes que obtuvieron mejorías en clases distintas de arrugas, la mitad de ellas ocurrió simultáneamente para las líneas marioneta y los pliegues nasolabiales.

Por otra parte, la contracción contundente del músculo orbicular de los párpados induce la formación de pliegues concéntricos que emanan del canto lateral del ojo, resultando posteriormente, en las líneas del canto lateral o “patas de gallo”. Este grupo de líneas fue advertido en todas las voluntarias durante ambas sesiones de medida, ya sea con mayor o menor grado de severidad. A su vez, si bien la severidad que prevaleció entre las participantes fueron aquellos que indicaban la presencia de arrugas finas o muy finas, no se observó ninguna mejoría en este grupo de arrugas (Figura 8).

Las líneas horizontales de la frente, causada por las contracciones reiteradas del músculo frontal (Zimble, Kokoska, & Thomas, 2001) fueron observadas en 19 de las 21 voluntarias, entre las cuales los grados 2 y 3 fueron los más frecuentes. Pese a que en promedio dichas arrugas poseían una severidad sustancial, se observaron mejorías en tres pacientes, e incluso una de estas pasó de tener arrugas mínimas a no tener arrugas visibles en su frente (Figura 8).

En general los resultados obtenidos con esta técnica no podrían ser contrastados con los obtenidos al evaluar la capacidad anti-arrugas del compuesto Trylagen®, ya que tanto las técnicas utilizadas como la información que estos proporcionan difieren rotundamente. Por tanto, si bien se logra advertir que en ambos casos ocurrieron mejorías en la profundidad de ciertas arrugas, la comparación entre resultados no es posible.

Por otra parte, cabe recalcar que si bien las diferencias clínicas entre dos niveles de severidad consecutivos (Day et al, 2004; Carruthers & Carruthers, 2010), resultaban muy útiles a la hora de lograr diferenciar claramente uno del otro, dichas diferencias constituían cambios ciertamente contundentes. Consiguientemente, para se produzca el cambio de un grado de severidad al anterior, estas mejorías deberían ser verdaderamente considerables, provocando que en varias ocasiones cambios más sutiles aunque apreciables, pasasen desapercibidos al ser evaluados por la escala correspondiente. Los resultados que se desprendan de la utilización de dichas escalas, aunque podrían resultar en una posible pérdida de cierta información, tendrán una mayor posibilidad de reflejar efectivamente mejorías importantes y apreciables a simple vista, no solo por el investigador sino también por la mayoría de los usuarios.

Propiedades Fisiológicas cutáneas

Hidratación

La correlación entre la hidratación y la edad de las pacientes, observó significancia estadística solamente en una de las regiones faciales evaluadas. Sin embargo, este hecho se encuentra en concordancia con otras investigaciones en las que la mayor parte de las regiones corporales evaluadas, no mostraron significancia estadística al

correlacionar los valores de la hidratación con la edad de los sujetos de estudio (Wilhelm, Cua & Maibach, 1991; Marrakchi & Maibach, 2007; Mayes et al, 2010; Wa & Maibach, 2010). Al mismo tiempo, dicha correlación encontrada, se aleja de lo esperado y demostrado por otros estudios (Man et al, 2009; Shai, Maibach & Baran, 2009; Firooz et al, 2012), en los cuales se han detectado una correlación estadísticamente significativa. Por otra parte, pese a que la correlación advertida en el estudio puede interpretarse como moderada, también se contrapone con otros trabajos de la literatura científica que establecen una tendencia a la disminución de la hidratación facial en el envejecimiento cutáneo (Dupont et al, 2010; Darlenski, Callaghan & Fluhr, 2011).

Por otro lado, la hidratación observó también correlaciones moderadas negativas con respecto a los valores de elasticidad obtenidos en la mejilla derecha durante la última sesión de medida, y con respecto a la TEWL del mentón durante la sesión T_0 .

En cuanto a la correlación entre la hidratación y la elasticidad obtenida en el estudio, podría establecerse que se contradice con el conocido hecho de que una disminución de la hidratación del SC, provoca que este pierda flexibilidad propiciando la formación de arrugas (Dupont et al, 2010). A su vez, otros estudios también han comprobado que un incremento en la hidratación cutánea, aumenta significativamente los parámetros reológicos de la misma (Dobrev, 2000).

Por su parte, el hecho de que los valores de la hidratación se correlacionen negativamente con los de la TEWL, podría explicarse debido a que una reducción en la hidratación cutánea puede alterar la barrera cutánea (Dupont et al, 2010). Esto se debe a que una disminución en el material higroscópico y el contenido lipídico cutáneo, pudiendo resultar en una pérdida en la capacidad de retención y difusión de agua, lo cual causaría un incremento en la cantidad de agua que logra evaporarse provocando la deshidratación de dicha región (Dupont et al, 2010). Sin embargo, otros autores opinan que a modo de compensar las alteraciones estructurales que ocurren en el envejecimiento, el SC córneo incrementa su grosor, puesto que la diferenciación de los corneocitos se vería alterada por la falta de hidratación cutánea, representando así un mayor impedimento al pasaje de las moléculas de agua (Rawlings & Harding,

2004). Por tanto, en base a esta última postura, la correlación entre la hidratación y la TEWL podría ser positiva, en contrapartida con lo observado en este estudio.

No obstante, considerando desde una perspectiva más holística las correlaciones efectivamente significativas, se advierte que estas solo fueron encontradas en una de las cuatro regiones evaluadas, por lo que no estarían representando efectivamente la relación ocurrida entre dichos parámetros para este estudio.

En base a las comparaciones pareadas de los valores obtenidos en cada sesión para cada región evaluada, se observa que dicha propiedad sobrellevó un efecto shock a causa de la utilización de la crema durante las primeras 2 semanas. Esto se concluye a causa de que en las cuatro regiones evaluadas, la comparación de los resultados obtenidos en T_1 con respecto a los de T_0 resultaron ser estadísticamente significativos (Figura 9).

En particular, para ambas mejillas los resultados indicaron que al final de estudio, los valores medios de hidratación si bien eran mayores que al comienzo del mismo, estos no fueron estadísticamente distintos. Sin embargo, para las otras dos regiones restantes, sí se observó una continuación del incremento en los valores de hidratación a lo largo de todo el estudio. De hecho, en el mentón, al observarse significancia estadística entre todas las comparaciones pareadas, se deduce que la crema produjo un incremento progresivo de su hidratación tanto a las dos como a las cuatro semanas. La frente por su parte, observó también un incremento en su hidratación, aunque no progresivo como en el mentón, ya que no se observó una diferencia significativa al comparar los valores entre T_1 y T_2 . Por tanto, se deduce que luego del efecto shock de las dos semanas observado en las cuatro regiones evaluadas, la crema logra mantener los valores de hidratación evitando que vuelvan al estado basal. Asimismo, si bien esto último se determinó estadísticamente para las regiones faciales de la “zona T” del rostro (frente y mentón), dicha tendencia fue también observada en ambas mejillas. En lo que respecta a los porcentajes que representan la diferencia entre los valores de hidratación medidos en T_1 o T_2 con respecto a T_0 , se observa un amplio espectro de posibilidades, puesto que se advirtieron desde casos que indicaban un deterioro en la

hidratación cutánea, hasta aquellos en los que el incremento de dicho valor fue superior al 100% del adquirido al inicio del estudio.

En ambas mejillas se observa que en general un número considerable de voluntarias obtuvo porcentajes altos de incremento de la hidratación, sobrepasando inclusive el 120 % de su valor inicial (Figura 10a y 10b). A su vez, fueron observados pocos casos en los que valores de hidratación en T_1 disminuyeron con respecto al inicio del estudio, todo lo cual permite establecer que la diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos para las sesiones de medidas T_0 y T_1 , corresponde a un incremento considerable de los valores de hidratación de las mejillas luego de dos semanas de uso.

Para el caso de la frente, se observa que los porcentajes obtenidos a partir de la comparación entre la primer y última sesión del estudio adquirieron una mayor frecuencia de porcentajes más altos y una menor cantidad de peorías, que al comparar los valores obtenidos en las sesiones T_1 y T_0 (Figura 10c y 10 d). De manera que las mejorías ocurridas en la hidratación de la frente fueron más evidentes en la última sesión del estudio que en la segunda sesión, si bien en ambas sesiones la utilización de la crema resultó en un incremento estadísticamente significativo de la hidratación en dicha región facial.

En el mentón por su parte, la situación observada fue distinta a la de la frente, puesto que los porcentajes obtenidos de la comparación entre los valores de hidratación de las sesiones T_0 y T_1 adquirieron en general, no solo valores más altos, sino también una mayor frecuencia de peorías, que en la comparación entre la primer y última sesión del estudio (Figura 10e y 10f). Por tanto, pese a que se observa un aumento estadísticamente significativo para ambas sesiones con respecto a T_0 , es en la segunda sesión cuando dicho incremento es en general mayor.

Por otra parte, en relación a los resultados obtenidos en el cuestionario, se observó que los valores de hidratación de la participante que había expresado sentir su piel más seca desde que utilizaba la crema, habían aumentado en ambas sesiones respecto a T_0 , con la excepción de los valores adquiridos para el mentón durante la sesión T_1 y para la mejilla derecha en T_2 . No obstante, los valores de porcentaje de cambio

rondaron entre las categorías 1 y 4, de manera que por más que existieron incrementos en dichos valores, estos no fueron tan contundentes, por lo que quizás no alcanzaron a reflejarse clínicamente, impidiendo ser percibidos por la propia participante, lo cual explicaría su respuesta en el cuestionario. Por otro lado, al comparar sus valores de hidratación con la media obtenida en cada sesión, se observa que estos se encuentran por encima de esta, en todas las regiones faciales y sesiones de medida, excepto en la frente durante la sesión T₂. Sin embargo, no existe información científicamente comprobada sobre el valor cualitativo de los datos que devuelve el aparato de medida, por lo que no puede establecerse con certeza si sus valores se encuentran dentro de un rango normal o no, pese a ser mayores que la media. Por tanto, no es posible determinar si su respuesta podría estar siendo contradictoria a lo que verdaderamente ocurrió o no.

Cabe resaltar que, pese a que los resultados se acercarán a los esperados en base a los atributos de los compuestos de la crema, la medida de la hidratación puede verse influenciada por varios factores. Entre dichas influencias se encuentra el hecho de que el principio físico subyacente al aparato de medida, depende del contenido acuoso y de la temperatura corporal (Berardesca, 1997). A su vez, los electrodos en contacto con la piel pueden ser dependientes de la presión aplicada, al igual que la presencia de sustancias entre los electrodos y la piel (pelo, aceites o ceras) podrían afectar los resultados (Berardesca, 1997).

Pérdida transepidérmica de agua

En lo que respecta a las correlaciones observadas, se advirtió que la TEWL se relaciona negativamente con la edad de las voluntarias en una de las regiones evaluadas. Dicha correlación se encuentra en concordancia con ciertas investigaciones que establecen que los individuos maduros poseen una mejor función de barrera cutánea (Berardesca & Maibach, 1990; Cua, Wilhelm & Maibach, 1990; Kobayashi & Tagami, 2004 citados por Tagami, 2008).

En lo que respecta a los valores observados en las distintas regiones faciales, otras investigaciones han establecido aquellos valores obtenidos en el mentón como los más altos y en la frente como los más bajos, quedando las mejillas con valores intermedios

y significativamente mayores a la frente (López et al, 2000; Wa & Maibach, 2010). A su vez, en dicho estudio se estableció una gran simetría entre los parámetros evaluados para las dos mejillas. Ambas situaciones discrepan con lo observado en el presente estudio, ya que pese a que el mentón fue la región con los mayores valores medios de TEWL, la frente fue la que obtuvo el segundo lugar y la mejilla derecha y la izquierda adquirieron el tercer y cuarto lugar respectivamente (Figura 11). Este orden, casualmente coincide con el orden en el que las áreas fueron medidas en cada sesión, pero en sentido contrario. Por tal motivo, cabe la posibilidad de que dichos valores sean producto de errores proporcionados por el aparato de medida. En efecto, al tomar medidas por triplicado en zonas cercanas y en 4 regiones faciales distintas, es probable que se haya producido oclusión del agua evaporada en la medida anterior, de manera que en cada medida realizada podría producirse una acumulación de agua, simulando así una TEWL progresivamente mayor (Courage + Khazaka electronics GmbH®, 2009). Existen también una serie de variables relacionadas con el ambiente (humedad relativa y temperatura ambiental) y con el aparato de medida en sí mismo. Entre estas últimas, se advierte que el aparato de medida es muy sensible a las corrientes de aire (Darlenski & Fluhr, 2012), por lo que existe también la posibilidad de que las medidas se encuentren comprometidas, incluso por la propia respiración de la participante (Lopez et al, 2000). Asimismo, parte de la variabilidad de los resultados obtenidos en distintos estudios, es originada por los propios caracteres individuales de los sujetos de investigación que influyen la función de barrera cutánea. Estas abarcan principalmente la edad, género, región anatómica (Darlenski & Fluhr, 2012), temperatura superficial de la piel, flujo sanguíneo cutáneo, el grado de formación de los corneocitos, sudor y el contenido lipídico del SC (Marrakchi & Maibach, 2007; Darlenski & Fluhr, 2012; Firooz et al, 2012).

La sensibilidad del aparato de medida a los cambios en las condiciones ambientales, podría ser el motivo por el cual durante la segunda sesión de medidas, los valores medios de TEWL adquiridos en la mayoría de las regiones evaluadas fueron los más altos. Esto se debe a que quizá un leve cambio en la temperatura y humedad de la habitación en donde se tomaban las medidas pudo haber influenciado los valores de

dicho parámetro. De hecho, el análisis comparativo muestra que en 3 de las 4 regiones el incremento de los valores de TEWL en la sesión T₁ es estadísticamente significativo.

Por otro lado, el comportamiento de los valores medios de dicha propiedad permite suponer que la utilización de la crema durante todo el estudio, no produjo grandes cambios. Esto es debido a que en la mayoría de las regiones faciales evaluadas, los valores medios obtenidos en la última sesión de medidas, no difieren estadísticamente de los primeros, si bien se observa cierta tendencia al incremento de los mismos.

Cabe resaltar que dicha tendencia creciente, también advertida mediante los valores adquiridos por los porcentaje de cambio (Figura 12), se contrapone claramente al efecto estipulado en base a las propiedades de los ingredientes contenidos en la formulación de la crema, puesto que se espera que los compuestos humectantes disminuyan la TEWL (Verdier-Sévrain & Bonté, 2007). De hecho, sería de suponer que ya que la crema mejoró considerablemente la hidratación del SC en las distintas regiones evaluadas, la función de barrera cutánea también debería haber mejorado o al menos no empeorado.

Lípidos en superficie

Los valores indicativos de los niveles de lípidos en superficie adquirieron un amplio grado de variabilidad, principalmente al inicio del estudio (Figura 13). Dicha variabilidad podría ser producto de los muchos factores que influyen a la secreción sebácea. Entre estos se encuentra la reacción diferencial de las glándulas sebáceas a la variación de temperatura superficial (Kobayashi & Tagami, 2004; Wa & Maibach, 2010), dependiendo del tamaño de dichas glándulas o la densidad local de estos apéndices, lo cual varía de acuerdo a la región facial considerada (Marrakchi & Maibach, 2007). Otros factores incluyen cambios hormonales, etarios, género y raza (Marrakchi & Maibach, 2007). Teniendo en cuenta la edad de las voluntarias, es probable que algunas de ellas, comenzasen a experimentar ciertos cambios hormonales relativos a la menopausia. Desafortunadamente, estos cambios no fueron monitoreados, por lo que fue posible determinar si este factor se encontraba comprometiendo los resultados o no.

La influencia de dichos factores, produce también una variación de los niveles de lípidos en las distintas regiones faciales, ya que estas difieren en el tamaño, la concentración y la actividad de las glándulas sebáceas (López et al, 2000; Couturaud, 2009). De hecho, es ampliamente comprobado el hecho de que la distribución de los niveles de sebo ocurre generalmente en “forma de T”, adquiriendo valores medios más altos en la frente, nariz y el mentón que en las mejillas (López et al, 2000; Kobayashi & Tagami, 2004; Youn et al, 2005; Wa & Maibach, 2010). Dicha disposición coincide con lo observado en el presente estudio, ya que la frente y el mentón fueron las regiones faciales con los mayores valores medios de lípidos en superficie.

En cuanto al comportamiento de este parámetro a lo largo del estudio, podría decirse que la utilización de la crema habría logrado nivelar en parte los valores de lípidos en superficie. Esto puede observarse mediante el hecho de que las regiones corporales que poseían los niveles más altos de dicho parámetro al comienzo del estudio, los disminuyeron al final de este, y lo opuesto ocurrió en las mejillas, en las cuales se observó un incremento de dichos valores en la última sesión de medida. Sin embargo, no se observa ninguna significancia estadística al comparar los valores obtenidos entre sesiones, por lo que los valores observados podrían perfectamente estar ocurriendo de esta forma por azar, y no porque la crema produjo este efecto.

Por otra parte, se observaron los valores de lípidos en superficie que habían sido advertidos en las tres voluntarias que expresaron sentir su cutis más graso luego de colocarse la crema. La mayoría de sus valores, excepto los obtenidos en el mentón, se encontraban por debajo de la media observada para todas las voluntarias en cada sesión de medida. Nuevamente, la falta del valor cualitativo de las unidades de medida, impide que pueda establecerse si estas participantes poseen o no un biotipo de cutis graso o no, como para determinar si fue este el motivo por el cual ellas consideraron que la crema producía esa sensación de excesiva grasitud.

Elasticidad

La correlación negativa ($r = -0,499$, $p = 0,021$) existente entre la edad de las voluntarias y los valores de la elasticidad de la mejilla derecha, coincide con lo establecido en otros estudios similares. En dichas investigaciones advierten que la edad de los participantes

se correlaciona negativamente con el radio de recuperación elástica (en este estudio denominado elasticidad) (Ryu et al, 2008; Jae et al, 2012), e incluso, que este parámetro podría ser utilizado como un estimador del envejecimiento cutáneo (Ryu et al, 2008). Sin embargo, al igual que los otros casos del estudio en los que se observó una correlación estadísticamente significativa, esto sucedió solamente en 1 de las 4 regiones evaluadas, por lo que a pesar de ser coherente, no es del todo representativa.

En lo que respecta a las diferencias regionales de las propiedades biomecánicas cutáneas, se apreciaron estudios que establecen que las propiedades mecánicas cutáneas difieren según la región corporal considerada (Ohshima et al, 2011). Sin embargo, no fue posible hallar bibliografía comparable para este estudio que sugiriese valores esperados para las distintas regiones faciales, ya sea por las regiones corporales que estos evaluaron o por los instrumentos de medidas utilizados.

En este estudio, se observa que cada región se comportó de manera diferente, y solamente dos de estas obtuvieron resultados similares a los esperados con la utilización de la crema (Figura 14). No obstante, el incremento observado solo fue estadísticamente significativo en una de ellas, por lo que pudo haber ocurrido por azar. Por otra parte, a diferencia de lo ocurrido en las otras propiedades, las mejillas no mostraron simetría en su respuesta a la utilización de la crema.

Esta gran variabilidad, podría ser reflejo de la dificultad implícita en la evaluación de dichas propiedades, causada por la interdependencia de los elementos constituyentes de la piel y a la variabilidad de respuestas que estos pueden producir frente al estrés mecánico (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004). A su vez, existen una serie de factores que influyen las propiedades mecánicas en sí mismas. Estas incluyen el nivel de hidratación cutánea, diferencias en las estructuras anatómicas en relación al sexo, edad, postura corporal, cambios hormonales y fotodaño acumulado (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004).

Asimismo, la importante contribución de la dermis y la hipodermis a las fuerzas de tensión cutáneas, hacen que posibles cambios en el índice de masa corporal puedan modificar en parte dichas fuerzas (Piérard, 1999; Hermanns-Lê et al, 2004). Por tanto, como este estudio fue realizado en un plazo de cuatro semanas, pudieron haber existido modificaciones en el índice de masa corporal de las voluntarias que

influenciaran los valores de la elasticidad medida por la sonda correspondiente. Pese a esto, de dicho índice no fue tenido en cuenta en este estudio, puesto que se consideró que por la duración del estudio, la pérdida o ganancia de peso que pudiese existir no iba a ser tan contundente como para alterar en demasía los resultados.

Por otra parte, al comparar los resultados del estudio obtenidos en los parámetros de elasticidad con respecto a los de la hidratación, podría establecerse que por más que la crema logró mejorar la hidratación cutánea, esta no fue suficiente como para producir un cambio significativo en la propiedad biomecánica evaluada.

En base a la relación entre la elasticidad cutánea y la formación de arrugas, podría establecerse que los resultados obtenidos en este estudio muestran cierta contradicción con lo esperado (Fisher, 2005; Bilodeau & Lacasse, 2008), ya que pese a la atenuación advertida en la profundidad de cierta arrugas, en general los valores de elasticidad no alcanzaron un incremento significativo.

Por último, en relación a lo observado en la pregunta del cuestionario referente a los cambios que las voluntarias pudiesen observar en cuanto a la firmeza de su piel, podría establecerse que dichas observaciones constituyen un sesgo de respuesta. Esto se debe a que, si bien la mayoría de las voluntarias expresó que su cutis estaba levemente más firme, al observar los valores indicativos de la elasticidad se advierte no solamente que 1 de las 4 regiones evaluadas incrementó dichos valores significativamente, sino que en las regiones faciales restantes, los valores de elasticidad restantes no habían variado de manera significativa. Por tanto, es difícil considerar que estos leves cambios en los valores de dicho parámetro hayan logrado producir una manifestación clínica considerable como para que las voluntarias lo hayan apreciado. Por otro lado, la dificultades existentes en la evaluación de las propiedades mecánicas de piel, relativas a la interdependencia de sus varias influencias, puede haber comprometido los resultados observados en este estudio, por lo que quizá la percepción de las voluntarias serían mejor reflejo, que los valores objetivos proporcionados por el aparato de medida, del comportamiento real de dicho parámetro.

Consideraciones

La mayoría de los estudios previos a cargo de las empresas creadoras de ciertos activos de la crema, comprobaron las propiedades de los mismos mediante técnicas *in vitro* e instrumentos de mayor precisión, por lo que podría ser plausible que las particularidades de dichos activos estipuladas por estos, difieran de las observadas en las voluntarias con el instrumento utilizado en el presente estudio.

Debido a que los valores de la TEWL se vieron comprometidos por la propia técnica utilizada, podría suponerse que varias de las regiones, estos podrían no resultar tan altos como aparentaron. Dicha suposición en conjunto con la relación existente entre la TEWL y la penetración de sustancias a través de la piel (Elkeeb et al, 2010), permiten suponer, que si las regiones faciales evaluadas no poseían demasiado alteradas la función de barrera cutánea, entonces el traspaso de los distintos componentes de la crema a través de la piel pudo no haberse producido. Consecuentemente, parte de los componentes de la crema podrían haber quedado confinados a la superficie cutánea, sin alcanzar sus moléculas diana en capas más profundas de la piel. De hecho, uno de los componentes de la crema que podría no haber alcanzado la matriz dérmica serían los LUD con el extracto de Marcela. Dicha suposición asienta en el carácter hidrofílico de los LUD, en conjunción con la consideración de que el mecanismo por el cual dichos liposomas logran penetrar se encuentra íntimamente relacionado con el gradiente de agua que existe naturalmente en el SC. Por tales motivos, podría suponerse que, la humectación de la superficie cutánea proporcionada por los componentes de la crema, podría aportar la humedad necesaria como para generar condiciones adecuadas para los LUD, propiciando a que permanezcan en la superficie sin necesidad de tener que atravesar el SC en búsqueda de condiciones más afines a estos. Por ende, de esto haber ocurrido, el extracto de marcela contenido en ellos, tampoco alcanzaría sus moléculas diana. Por otro lado, el propio carácter hidrofílico del extracto encapsulado pudo haber resultado en una liberación demasiado lenta, y por tanto, no pudo ejercer su acción sobre las moléculas diana.

No obstante, puede que la penetración de los componentes de la crema no se haya visto comprometida, y que quizás simplemente se necesite una mayor concentración de las sustancias activas para que estas produzcan los efectos deseados.

En lo que respecta a las mejorías determinadas por el análisis fotográfico, el hecho de la mayoría de las arrugas que lograron una mejoría poseían un grado de severidad media, pudo haber sido causa de que, líneas con mayor severidad necesitaban de otro tipo de tratamientos para lograr su mejoría, que simplemente el tratamiento tópico con un solo producto. A su vez, en caso de producirse mejorías en arrugas que constituyen rasgos poco evidentes en el rostro de las voluntarias, estos cambios también serán menos aparentes. Por tal motivo, la mayor frecuencia de mejorías en arrugas de severidad intermedia, podría estar sucediendo no solo porque estas se encuentran mayormente representadas en nuestra muestra, sino porque la posibilidad de que dichos cambios ocurran o sean percibidos, es menor en líneas con severidades más extremas.

Limitaciones del estudio

El presente estudio fue realizado con el fin de testear la eficacia de la crema como un todo, y no de sus ingredientes por separado ni de la concentración que estos podrían tener en dicha crema. Por tal motivo, no era imprescindible la utilización de un grupo control, y por falta de recursos de diversa índole, se decidió prescindir de este. Sin embargo, la evaluación conjunta de un grupo control hubiese sido ideal, principalmente a la hora de lograr especificar la posible influencia de condiciones ambientales externas o incluso de los errores que provengan del propio instrumento de medida. A su vez, el tamaño de la muestra del presente estudio puede constituir una limitación del mismo, ya que podría no ser lo suficientemente representativa del resto de la población.

La necesidad de comprobar la eficacia del producto a corto plazo, exigida primordialmente por el propio consumidor, hace que la longitud de este tipo de estudios deba ser relativamente corta. Sin embargo, puede que para el presente caso, la disposición de realizarlo en cuatro semanas, pudo haber sido un tanto excesiva, e

incluso insuficiente para que se manifiesten ciertos cambios, tales como la elasticidad del SC.

Por otro lado, también hubiese sido ideal poder estandarizar el horario de la toma de datos para cada paciente, es decir, que cada una de las voluntarias tuviese siempre el mismo horario para que se le tomen las medidas, con el fin de evitar las posibles variaciones existentes generadas por del ritmo circadiano individual. Desafortunadamente, la disponibilidad de horarios tanto de las voluntarias como de los colaboradores del estudio, no permitió dicha constancia.

En relación al aparato de medida, podría establecerse que este no poseía una precisión demasiado aguda, de manera que existe la posibilidad de que ciertas modificaciones de las propiedades evaluadas hayan pasado desapercibidas. Sin embargo, esta situación podría constituir un factor positivo a causa de los siguientes motivos. Primeramente, si un producto es lanzado al mercado con la finalidad de mejorar clínicamente ciertos aspectos del proceso de involución cutánea, será imprescindible que los cambios que dicho producto genere, sean perceptibles por las usuarias para que estas continúen utilizándolo. Consecuentemente, aquellos instrumentos de medición que sean capaces de detectar hasta el mínimo cambios de una propiedad dada, a los efectos de la practicidad, aportarán información que algunas veces puede ser irrelevante en la determinación de la eficacia real de un producto dado. Esto es debido simplemente a que, el hecho de que se hayan detectado modificaciones en los valores de cierta propiedad, no significa que estas hayan logrado manifestarse clínicamente como para ser observadas a simple vista, ya sea por el investigador o el consumidor en sí mismo.

Por otra parte, también se observa que el instrumento de medida utilizado, al igual que otros de su clase, puede llegar a ser extremadamente sensible a muchas influencias externas e incluso ser operador-dependiente. Como consecuencia de dicha característica, es posible que los resultados se hayan visto comprometidos o sesgados por los errores en la toma de datos, a pesar de que se intentó estandarizar las condiciones de la habitación en donde esto se llevaba a cabo.

A su vez, la carencia de información acerca de la significancia clínica de los valores obtenidos por el aparato, no permiten establecer si los valores obtenidos en el estudio se correspondían con estados normales, alterados o incluso patológicos de dichas propiedades fisiológicas. Por consiguiente, quedaron varias interrogantes sin responder.

Por último, debido a la falta de recursos principalmente de índole instrumental, no se tomaron en cuenta las variaciones individuales relativas a la temperatura superficial de la piel ni a los cambios hormonales de las voluntarias durante el estudio. Por tanto, la influencia de dichos factores sobre las propiedades evaluadas, no fue incluida en el estudio.

Conclusiones

El presente trabajo intenta exponer los mecanismos fisiológicos subyacentes al proceso de la involución cutánea a través de literatura científica disponible en la actualidad. A su vez, pretende contribuir a una mejor comprensión de los posibles elementos para su atenuación desde un punto de vista cosmético, utilizando como ejemplo, la determinación de la eficacia de un producto con atributos antiage. Asimismo, pretende hacer hincapié en los múltiples factores, ya sean intrínsecos o extrínsecos, que influyen al envejecimiento cutáneo, y en la importancia de una concepción holística del proceso para procurar un mejoramiento de las manifestaciones clínicas de este.

El envejecimiento constituye un proceso inexorable y complejo, que definitivamente va más allá de lo estético y puede comprometer seriamente la salud de las personas. Por este motivo, la comprensión de sus expresiones, permitiría que esta etapa pueda ser llevada de la mejor manera posible, aceptando aquello que no es posible cambiar y controlar lo que podemos evitar mediante ciertas prácticas preventivas, entre la que se incluyen el tratamiento cosmético de las expresiones fehacientes del proceso.

En relación a los objetivos planteados para la determinación de la eficacia de la crema, puede establecerse que los resultados obtenidos se muestran contradictorios con parte los supuestos preestablecidos, y en concordancia con otros.

En particular, a pesar de la existencia de los posibles sesgos de respuesta, la mayoría de las participantes se mostró conforme con las características de la crema y

establecieron que la utilización de la misma había producido mejorías a nivel de la hidratación, arrugas, firmeza, luminosidad y aspecto general del rostro, además de considerar que les había sido efectiva en mejora las arrugas de su rostro y q en base a su experiencia, todas ellas recomendarían el producto.

El análisis fotográfico revela que se advirtió una atenuación en la profundidad de al menos uno de los cuatro grupos de arrugas evaluadas en el 61,90 % del total de voluntarias. No obstante, en la mayor parte de los casos, las mejorías ocurrieron en uno de los grupos de arrugas ponderados, y siempre entre grados consecutivos de cada escala. A su vez, se observa que la utilización de la crema no logró producir modificaciones en la profundidad de las arrugas del canto lateral del ojo, mientras que las frecuencias más altas de mejorías ocurrieron en la zona inferior del rostro, particularmente, en los pliegues nasolabiales y las líneas marioneta. Este último grupo de arrugas, fue el único cuya severidad observó una correlación estadísticamente significativa con la edad de las participantes.

Por otro lado, la comparación múltiple entre los resultados del análisis fotográfico, las percepciones de las propias voluntarias y los datos obtenidos a partir del Multi Skin Test Center MC-900® (Courage + Khazaka Electronic GMBH®, Alemania), observó ciertas discordancias. Dicha situación, en conjunción con los sesgos existentes en metodologías más subjetivas, estaría reafirmando la importancia de incluir en este tipo de estudios, estimaciones de datos objetivos mediante instrumentos de medida. Al mismo tiempo, dichas discordancias estarían también haciendo referencia a los distintos grados de significancia que deberían tener cada una de las metodologías implementadas, es decir que, según la objetividad de las técnicas, estas deberán poseer un peso diferencial en la determinación de la eficacia de un producto.

En lo que respecta a los cambios observados en las propiedades fisiológicas determinados por el instrumento de bioingeniería cutánea, se observa que la hidratación del SC sobrellevó un efecto shock a las dos semanas del comienzo del estudio en todas las regiones faciales evaluadas, luego del cual los valores se estabilizan. Dicha parámetro fue el único en mostrar efectivamente variaciones que fuesen estadísticamente significativos y a la vez que coincidieran con lo esperado en base a las propiedades previamente atribuidas a los compuestos de la crema.

Las correlaciones que lograron adquirir significancia estadística, ya sea entre la edad de las participantes y los parámetros fisiológicos o al comparar estos últimos entre sí, fueron en general escasas, por lo que no se consideran lo suficientemente representativas como para fundar suposiciones al respecto.

Por otro lado, aquellos resultados obtenidos que se alejan de lo esperado en base a las propiedades previamente atribuidas a los componentes de la crema, destacan la importancia de la realización de estudios que evalúen la eficacia de un producto terminado, a pesar de que la eficacia de sus activos ya haya sido evaluada por separado.

Se observa una carencia en información básica que defina cuales son los rangos de valores que podrían considerarse como normales, para lograr establecer cualitativamente el significado de los valores que otorga el aparato, y al mismo tiempo, determinar una equivalencia entre estos y las manifestaciones clínicas de los cambios producidos.

Perspectivas

Las múltiples facetas anatómicas de la piel, resultantes de diferencias en la arquitectura cutánea y relación con otras estructuras anatómicas, en conjunción con diversos aspectos del estilo de vida del individuo, producen expresiones diferenciales de las propiedades fisiológicas en las distintas regiones del rostro. La literatura científica si bien presenta una serie ejemplos de investigaciones que han intentado mapear el rostro en base a las propiedades biofísicas y biomecánicas y establecer posibles relaciones entre estos. Sin embargo, la falta de estandarización en las metodologías utilizadas, condiciones ambientales, así como la influencia de ciertos factores étnicos y etarios de los sujetos de estudio, dificultan tremendamente la comparación entre estudios, y señalan la falta de un consenso general acerca del comportamiento de dichos parámetros. Por tal motivo, futuras investigaciones en este ámbito deberían coordinar esfuerzos para lograr un común acuerdo y estandarización de los diseños de estudios, para lograr ponderar los distintos factores influyentes en cada región facial o corporal, así como las correlaciones entre los distintos parámetros

fisiológicos. Este tipo de investigaciones, constituirían fuertes cimientos sobre los cuales la industria cosmética y la dermatología instaurarían nuevos campos de acción. Particularmente en Uruguay, se observa cierta carencia en la información existente acerca de los valores de adquieren dichos parámetros dentro de la población. Por consiguiente, futuros trabajos deberían focalizarse en determinar el significado cualitativo de los datos que proporciona este u otros instrumentos de bioingeniería cutánea. Dichas investigaciones deberían abarcar la realización de estudios a macro escala, con muestras de gran tamaño y representativas de la totalidad de la población uruguaya. La finalidad de estos estudios debería ser, entre otras cosas, asentar las bases para el establecimiento y generalización de los parámetros fisiológicos de acuerdo a la raza, género, edad y condiciones climáticas pertinentes. Esta información sería de gran utilidad no solamente para la industria cosmética, que podrá focalizar esfuerzos en la creación de productos que intenten atenuar aquellas propiedades en las cuales la población se caracteriza por tener mayores complicaciones o están más comprometidas. En el área de la dermatología, este tipo de investigaciones básicas podría recabar referencias más verídicas y adaptadas a nuestra población, acerca de cuando los cambios en ciertas propiedades de la piel pasan a ser patológicas, y cuales de estas son las más comunes en nuestra población, e incluso cuales individuos serán más propensos a padecer ciertas afecciones en base a las condiciones ambientales o época del año, permitiendo así crear campañas de prevención.

En lo que respecta a futuros estudios de eficacia cosmética, es importante recalcar la inclusión en su metodología de instrumentos capaces de estimar las propiedades cutáneas y monitorear sus cambios, ya que constituyen una fuente de información objetiva, y por tanto, demostraciones de la eficacia de un producto mediante estas técnicas podrán ser más fidedignas, que mediante otros métodos más subjetivos.

En relación a las técnicas de ponderación de arrugas mediante comparación fotográfica, estudios posteriores deberían incluir la creación y validación de nuevas escalas para la medida de la severidad de las arrugas, las cuales deberían poseer un mayor número de niveles, de manera que estos sean diferenciables entre sí pero no lo suficientemente distantes como para pasen por alto cambios apreciables a simple vista. Consecuentemente, la eficacia cosmética podrá ser establecida más fehacientemente.

Por último pero no menos importante, cabe destacar que la conciencia de la patofisiología del envejecimiento cutáneo, en conjunción con los mecanismos preventivos pertinentes, constituyen la mejor herramienta para lograr un envejecimiento saludable.

Referencias Bibliográficas

- Albert, A.M., Ricanek Jr., K. & Patterson, E. (2007). A review of the literature on the aging adult skull and face: Implications for forensic science research and applications. *Forensic Science International*, 172: 1-9.
- Alvarez-Roman, R., Barre, G., Guy R.H. & Fessi, H. (2001). Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: Preparation and photoprotection. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52: 191–195.
- Antonicelli, F., Bellon, G., Debelle, L. & Hornebeck, W. (2007). Elastin-elastases and inflamm-aging. *Current Topics in Developmental Biology*, 79: 99-155.
- Appa, Y. (2010). Chapter 16: Facial moisturizers. En: Draelos, Z.D. (ed). *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*. (1ª edición). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., 123-129.
- Arredondo, M.F., Blasina, F., Echeverry, C., Morquio, A., Ferreira, M., Abin-Carriquiry, J.A. et al. (2004). Cytoprotection by Achyrocline satureioides (Lam) D.C. and some of its main flavonoids against oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 13–20.
- Baumann, L. (2002). *Cosmetic dermatology*. New York: McGraw-Hill: 226 p.
- Baumann, L. (2007). Skin ageing and its treatment. *Journal of Pathology*, 211: 241–251.
- Berardesca, E. (1997). EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Research and Technology*, 3: 126-132.
- Berardesca, E., Maibach, H.I. (1990). Transepidermal water loss and skin surface hydration in the non-invasive assessment of stratum corneum function. *Dermatologie in Beruf und Umwelt*, 38: 50–53.
- Berneburg, M., Plettenberg, H. & Krutmann, J. (2000). Photoaging of human skin. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 16: 239–244.
- Billek, D.E. (1998). Cosmetics for elderly people. En: *Cosmetics & Toiletries®* (eds). *Cosmeceuticals: Active Skin Treatment*. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation, 163-172.
- Bilodeau, D. & Lacasse, I., (2008). Drawing the Line on Wrinkles. *Cosmetics and Toiletries® Magazine*, 123(7):39-48.
- Boudier, D., Guichard, N., Breugnot, J., Le Guillou, M. & Closs, B. (2009). In vivo Quantification of Corneocyte Lipids by Image Analysis. *Cosmetics and Toiletries® Magazine*, 124(5): 86-94.
- Brincat M.P., Baron Y.M., Galea R. (2005). Estrogens and the skin. *Climacteric*, 8: 110–123.
- Cal, K., Zakowiecki, D. & Stefanowska, J. (2010). Advanced tools for in vivo skin analysis. *International Journal of Dermatology*, 49: 492–499.

- Callaghan, T.M. & Wilhelm, K.P. (2008). A review of ageing and an examination of clinical methods in the assessment of ageing skin. Part 2: Clinical perspectives and clinical methods in the evaluation of ageing skin. *International Journal of Cosmetic Science*; 30: 323–332.
- Calleja-Agius, J., Muscat-Baron, Y. & Brincat, M.P. (2007). Skin ageing. *Menopause International*; 13: 60–64.
- Castelo-Branco, C., Colodrón, M., Rostro, F., Durán, M. (2005). Piel y terapia hormonal sustitutiva. *Ginecología y Obstetricia Clínica*, 6(4): 191-200.
- Carruthers, A. & Carruthers, J. (2010). A validated facial grading scale: The future of facial ageing measurement tools?. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 12: 235–241.
- Carruthers, A., Carruthers, J., Hardas, B., Kaur, M., Goertelmeyer, R., Jones, D. et al. (2008a). A Validated Grading Scale for Crow's Feet. *Dermatologic Surgery*, 34(2): S173–S178.
- Carruthers, A., Carruthers, J., Hardas B., Kaur, M., Goertelmeyer, R., Jones, D., et al. (2008b). A validated grading scale for forehead lines. *Dermatologic Surgery*, 34(2): S155 – S160.
- Carruthers, A., Carruthers, J., Hardas B., Kaur, M., Goertelmeyer, R., Jones, D., et al. (2008c). A validated grading scale for marionette lines. *Dermatologic Surgery*, 34(2): S167 – S172.
- Celleno, L. & Tamburi, F. (2009). Structure and Function of the Skin. En: Tabor, A. & Blair, R.M (eds). *Nutritional Cosmetics: Beauty from within* (1ª edición). New York, USA: Elsevier Inc, 4-45.
- Cevc, G. & Blume, G. (1992). Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration force. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1104(1):226-232.
- Cevc, G. & Blume, G. (2001). New, highly efficient formulation of diclofenac for the topical, transdermal administration in ultra-deformable drug carriers. *Transfersomes Biochemical Biophysical Acta*; 1514: 191-205.
- Cevc, G., Schatzlein, A. & Richardsen, H. (2002). Ultradeformable lipid vesicles can penetrate the skin and other semi-permeable barriers unfragmented. Evidence from double label CLSM experiments and direct size measurement. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1564: 21-30.
- Clarys, P. & Barel, A. O. (2009). New Trends in Antiaging Cosmetic Ingredients and Treatments: An Overview. En: Barel, A.O., Paye, M., Maibach, H.I. (eds). *Handbook of cosmetic science and technology* (3ª edición). New York, USA: Informa Healthcare USA Inc., 291-300.
- CLR – Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH® (n.d.). HYGROPLEX™ HHG [en línea]. En: Página web oficial de CLR – Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH®, Producto HYGROPLEX™ HHG: <http://www.clr-berlin.com/index.php?article_id=12&clang=3&selection=1&product=17>. Consultado en Noviembre del 2011.

- CLR Group – Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH® (2007). Hygroplex HHG®. CLR – Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH®, Berlín, Alemania: 1-16.
- Cosentino, M., Bombelli, R., Carcano, E., Luini, A., Marino, F., Crema, F. et al. (2008). Immunomodulatory properties of Achyrocline satureioides (Lam.) D.C. infusion: A study on human leukocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 501–507.
- Courage + Khazaka electronics GmbH®. (2009). Information and operating instructions of the Multi Skin Test Center® Model MC 750 and 900 with the Software SkinCheckUp (3ª edición). Cologne, Germany: Courage + Khazaka electronics GmbH®.
- Cua, A.B., Wilhelm, K.P., Maibach, H.I. (1990). Frictional properties of human skin: relation to age, sex and anatomical region, stratum corneum hydration and transepidermal water loss. *British Journal of Dermatology*, 123: 473–479.
- Couturaud, V. (2009). Biophysical Characteristics of the Skin in Relation to Race, Sex, Age, and Site. En: Barel, A.O., Paye, M., Maibach, H.I. (eds). Handbook of cosmetic science and technology (3ª edición). New York, EEUU: Informa Healthcare USA, Inc., 5-24.
- Darlenski, R., Callaghan, T. & Fluhr, J.W. (2011). Antiaging and Antiwrinkle Products. En: Fluhr, J.W. (ed.). Practical aspects of cosmetic testing: How to set up a scientific study in skin physiology (1ª edición). Berlin, Germany: Springer, 143-153.
- Darlenski, R. & Fluhr, J.W. (2012). Influence of skin type, race, sex, and anatomic location on epidermal barrier function. *Clinics in Dermatology*, 30: 269–273.
- Day, D.J., Littler, C.M., Swift, R.W., & Gottlieb, S. (2004). The Wrinkle Severity Scale: A Validation Study. *American Journal of Clinical Dermatology*, 5(1): 49-52.
- Desmarchelier, C., Coussio, J. & Ciccía, G. (1998). Antioxidant and free radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb Achyrocline satureioides (Lam.) DC. (“marcela”). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31: 1163-1170.
- Dobrev, H. (2000). Use of Cutometer to assess epidermal hydration. *Skin Research and Technology*, 6(4): 239–244.
- Dobrev, H. (2007). Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2: 113-118.
- Dobrev, H. (2011). Ethical Aspects of Cosmetic Testing. En: Fluhr, J.W. (ed.). Practical aspects of cosmetic testing: How to set up a scientific study in skin physiology (1ª edición). Berlin, Germany: Springer, 15-25.
- Draelos, Z.D. (2007). The latest cosmeceutical approaches for anti-aging. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 6: 2–6.
- Draize, J.H., Woodard, G. & Calvery, H.O. (1994). Methods to the study of the irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and membranes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2(3): 8-12.

- Dufour, A. & Candas, V. (2007). Ageing and thermal responses during passive heat exposure: sweating and sensory aspects. *European Journal of Applied Physiology*, 100: 19-26.
- Dupont, E., Gomez, J., Léveillé, C. & Bilodeau, D. (2010). From Hydration to Cell Turnover: An Integral Approach to Antiaging. *Cosmetics and Toiletries® Magazine*, 125(3): 50-62.
- Elias, P.M. & Ghadially, R. (2002). The aged epidermal permeability barrier: basis for functional abnormalities. *Clinics in Geriatric Medicine*, 18: 103-20.
- Elkeeb, R., Hui, X., Chan, H., Tian, L. & Maibach, H.I. (2010). Correlation of transepidermal water loss with skin barrier properties in vitro: comparison of three evaporimeters. *Skin Research and Technology*, 16(1): 9-15.
- El Maghraby, G.M., Williams, A.C. & Barry, B.W. (2001). Skin delivery of 5-fluorouracil from ultradeformable and standard liposomes in vitro. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53: 1069–1077.
- Elsayed, M.M.A., Abdallah, O.Y., Naggar, V.F. & Khalafallah, N.M. (2006). Deformable liposomes and ethosomes: Mechanism of enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 322: 60–66.
- Environmental Working Group. (n.d). EWG's Skin Deep® Cosmetics Database [en línea]. En: Página web oficial de Environmental Working Group: <<http://www.ewg.org/skindeep/>>. Consultado en Octubre del 2011.
- Ezure, T., Hosoi, J., Amano, S. & Tsuchiya, T. (2009). Sagging of the cheek is related to skin elasticity, fat mass and mimetic muscle function. *Skin Research and Technology*, 15: 299–305.
- Fábregas, A & del Pozo, A. (2006). Conceptos básicos de hidratación (I): Mecanismos naturales de hidratación. *OFFARM*, 25(3): 128-129.
- Farage, M. A., Miller, K. W., Elsner, P. & Maibach, H. I. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 30:87–95.
- Firooz, A., Sadr, B., Babakoohi, S., Sarraf-Yazdy, M., Fanian, F., Kazerouni-Timsar, A. et al (2012). Variation of Biophysical Parameters of the Skin with Age, Gender, and Body Region. *The Scientific World Journal*, 2012: 1-5.
- Fisher, G.J. (2005). The pathophysiology of photoaging of the skin. *Cutis*, 75(2):5-9.
- Fisher, G.J., Varani, J. & Voorhees, J.J. (2008). Looking older: Fibroblast collapse and therapeutic implications. *Archives of Dermatology*, 144(5): 666-672.
- Fisher G.J., Kang, S., Varani, J., Bata-Csorgo, Z., Wan, Y., Datta, S. et al. (2002). Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Archives of Dermatology*, 138: 1462-1470.
- Flórez-White, M. (2011). Fisiopatología del Envejecimiento Cutáneo [en línea]. En: Rondón, A., Roberto Antonio, J., Piquero-Martín, J., Pérez, R., Roberto Antonio, C. & Rondón, N. (eds). *Dermatología Ibero-Americana Online*, 97: 1-41: <<http://piel-l.org/libreria/item/1140>>. Consultado en Octubre del 2011.

- Friedman, O. (2005). Changes associated with the aging face. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 13: 371-380.
- Fuentes, L. "Consulta sobre información" [en línea]. Mensaje en: <luchip6@gmail.com>. 16 de Agosto 2011; 12:00. Message-ID: <CAKEhuJSeCgHg_JzR0UYWF=SfV+xryynj4eBzTb=1qpbsm+sALA@mail.gmail.com>. Comunicación personal.
- Ghadially R., Brown, B.E., Sequeiramartin, S.M., Feingold, K.R. & Elias, P.M. (1995). The aged epidermal permeability barrier-structural, functional and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model. *Journal of Clinical Investigation*, 95: 2281-2290.
- Gniadecka M., Gniadecki R., Serup J. & Sondergaard, J. (1994). Ultrasound structure and digital image analysis of the subepidermal low echogenic band in aged human skin: diurnal changes and interindividual variability. *Journal of Investigative Dermatology*, 102: 362-365.
- Gniadecka M, Nielsen OF, Wessel S. (1998). Heidenheim M, Christensen DH, Wulf HC. Water and protein structure in photoaged and chronically aged skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 11: 1129-1133.
- Gorouhi, F. & Maibach, H.I. (2009). Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *International Journal of Cosmetic Science*, 31: 327-345.
- Graf, J. (2005). Anti-Aging Skin Care Ingredient Technologies. En: Burgess, C.M. (ed). *Cosmetic Dermatology* (1ª edición). Heidelberg, Germany: Springer, 17-26.
- Hermanns-Lê, T., Uhoda, I., Smitz, S. & Piérard, G.E. (2004). Skin tensile properties revisited during ageing. Where now, where next?. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 3: 35-40.
- Honeywell-Nguyen, P.L., Bouwstra, J.A. (2003). The in vitro transport of pergolide from surfactant-based elastic vesicles through human skin: a suggested mechanism of action. *Journal of Controlled Release*, 86(1): 145-156.
- Honeywell-Nguyen, P.L., Bouwstra, J.A. (2005). Vesicles as a tool for transdermal and dermal delivery. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2(1): 67-74.
- Jadassohn, J. (1895). The contact or patch test: Its uses, advantages, and limitation. En: Zur Kenntnis der medikamentösen Dermatosen. Fifth Congress of the German Academy of Dermatology, Graz. Braunmüller, W. & Leipzig, W.: 103-129.
- Jae, W.C., Soon, H.K., Chang, H.H., Kyoung, C.P. & Sang, W.Y. (2012). The influences of skin visco-elasticity, hydration level and aging on the formation of wrinkles: a comprehensive and objective approach. *Skin Research and Technology*, 0: 1-7.
- Jiang, Z.X. & DeLaCruz, J. (2011). Appearance benefits of skin Moisturization. *Skin Research and Technology*, 17: 51-55.
- Kappes, U.P. (2004). Skin ageing and wrinkles: clinical and photographic scoring. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 3: 23-25.
- Kaplanski, E. "Información sobre la crema" [en línea]. Mensaje en: <luchip6@gmail.com>. 18 de agosto 2011; 11:45. Message-Id:

<4e4d2467.02a9960a.2057.ffffc8b5SMTPIN_ADDED@mx.google.com>.
Comunicación personal.

- Kennedy, B.K. (2008). The genetics of ageing: insight from genome-wide approaches in invertebrate model organisms (Review). *Journal of International Medicine*, 263: 142-152.
- Kobayashi, H. & Tagami, H. (2004). Distinct locational differences observable in biophysical functions of the facial skin: with special emphasis on the poor functional properties of the stratum corneum of the perioral region. *International Journal of Cosmetic Science*, 26: 91–101.
- Koblentz, C.S. (1996). Psychologic aspects of aging and the skin. *Clinical Dermatology*, 14: 171–177.
- Kobayashi, H. & Tagami, H. (2004). Distinct locational differences observable in biophysical functions of the facial skin: with special emphasis on the poor functional properties of the stratum corneum of the perioral region. *International Journal of Cosmetic Science*, 26: 91–101.
- Levin, J. & Maibach, H.I. (2009). The correlation between Transepidermal Water Loss and percutaneous absorption: An overview. En: Barel, A.O., Paye, M., Maibach, H.I. (eds). *Handbook of cosmetic science and technology* (3ª Ed). New York, EEUU: Informa Healthcare USA, Inc., 165-172.
- Lipotec® S.A. (2009a). Technical data of TRYLAGEN® PCB, CODE: P11-PD100 (4ª Revisión). Lipotec S.A®, Barcelona, España: 1-17.
- Lipotec® S.A. (2009b). Trylagen®: Material safety data sheet. (5ª Revisión). Lipotec S.A®, Barcelona, España: 1-3.
- Lipotec® S.A. (2009c). Trylagen®: Un ingrediente trifuncional para el tratamiento integral del colágeno [en línea]. En: Lipotec®, Ficha del Producto Trylagen®: <http://lipotec.com/archivos/Trylagen_C.pdf>. Consultado en Setiembre del 2011.
- López S., Le Fur, I., Morizot, F., Heuvin, G., Guinot, C., & Tschachler, E. (2000). Transepidermal water loss, temperature and sebum levels on women's facial skin follow characteristic patterns. *Skin Research and Technology*, 6: 31–36.
- Lozada, S.M. & Rueda, R. (2010). Envejecimiento cutáneo. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología*, 18:10-17.
- Luce, E.A. (1999). Outcome studies and practice guidelines in plastic surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 104: 1187-90.
- Makrantonaki, E. & Zouboulis, C.C. (2007). Characteristics and pathomechanisms of endogenously aged skin. *Dermatology*, 214: 352-60.
- Makrantonaki, E., & Zouboulis, C. C. (2008). Skin alterations and diseases in advanced age. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 5(2): e153-e162.
- Man, M.Q., Xin, S.J., Song, S.P., Cho, S.Y., Zhang, X.J., Tu, C.X., et al. (2009). Variation of skin surface pH, sebum content and stratum corneum hydration with age and

- gender in a large Chinese population. *Skin Pharmacology and Physiology*, 22(4): 190–199.
- Marcano, M.E. & González, F. (2006). Barrera Cutánea. *Dermatología Venezolana*, 44(2): 5-12.
- Marrakchi, S. & Maibach, H.I. (2007) Biophysical parameters of skin: map of human face, regional, and age-related differences. *Contact Dermatitis*, 57: 28–34.
- Mayes, A.E., Murray, P.G., Gunn, D.A., Tomlin, C.C., Catt, S.D., Wen, Y.B. et al. (2010). Ageing appearance in China: biophysical profile of facial skin and its relationship to perceived age. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 24(3): 341–348.
- McDaniel, D.H., Neudecker, B.A., DiNardo, J.C., Lewis II, J.A. & Maibach, H.I. (2005). Clinical efficacy assessment in photodamaged skin of 0.5% and 1.0% idebenone. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 4: 167–173.
- McDaniel, C. & Gates, R. (eds.) (2005). Capítulo 6: Investigación por encuestas: el profundo impacto de Internet. En: Investigación de mercados .(6ª edición). México D.F., México: Thomson Learning, Inc., 144-184.
- Morquio, A., Rivera-Megret, F. & Dajas, F. (2005). Photoprotection by Topical Application of Achyrocline satureioides ('Marcela'). *Phytotherapy Research*, 19: 486–490.
- Most, S.P., Alsarraf, R. & Larrabee, W.F. (2002). Outcomes of facial cosmetic procedures. *Facial Plastic Surgery*, 18: 119-24.
- Naranjo, T.A., Noguera-Salvá, R. & Fariñas Guerrero, F. (2009). La matriz extracelular: morfología, función y biotensegridad (parte I). *Revista Española de Patología*, 42(4): 249-261.
- Nilsson, J. (1997). Measurement of water exchange through skin. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 15: 209–218.
- Nohynek, G. J., Lademann, J., Ribaud, C. & Roberts, M.S. (2007). Grey Goo on the Skin Nanotechnology?, Cosmetic and Sunscreen Safety. *Critical Reviews in Toxicology*, 37: 251–277.
- Oestmann, E., Lavrijsen, A.P., Hermans, J. & Ponc M. (1993). Skin barrier function in healthy volunteers as assessed by transepidermal water loss and vascular response to hexyl nicotinate: intra-and inter-individual variability. *British Journal of Dermatology*, 128:130–162.
- Ohshima, H., Tada, A., Kanamaru, A., Akamatsu, H., Sakai, Y., Itoh, M., et al. (2011). Relevance of the directionality of skin elasticity to aging and sagging of the face. *Skin Research and Technology*, 17: 101–107.
- Padamwar, M.N. & Pokharkar, V.B. (2006). Development of vitamin loaded liposomal formulations using factorial design approach: Drug deposition and stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 320: 37–44.

- Palefsky, I. (2010). Chapter 9: Creams, lotions, and ointments. En: En: Draelos, Z.D. (ed). *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures* (1ª edición). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., 71-87.
- Pena Ferreira, M.R., Costa, P.C. & Bahia, F.M. (2010). Efficacy of anti-wrinkle products in skin surface appearance: a comparative study using non-invasive methods. *Skin Research and Technology*, 16:444–449.
- Perez, R., Oncins, C. & Garcia Anton, J.M. (2011). Cosmetic or dermopharmaceutical composition containing pseudoalteromonas ferment extract [en línea]. En: Free patents searching: <<http://www.freepatentsonline.com/y2011/0195103.html>>. Consultado en Diciembre del 2011.
- Piérard, G.E. from EEMCO Group. (1999). EEMCO Guidance to the in vivo Assessment of Tensile Functional Properties of the Skin, Part 1: Relevance to the Structures and Ageing of the Skin and Subcutaneous Tissues. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 12: 352–362.
- Puizina-Ivić, N. (2008). Skin aging. *Acta dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica*, 17(2): 47-54.
- Rajan, R., Jose S., Biju Mukund, V.P. & Vasudevan, D.T. (2011). Transferosomes - A vesicular transdermal delivery system for enhanced drug permeation. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2: 138-43.
- Ramos-e-Silva, M. & Coelho da Silva Carneiro, S. (2007). Elderly skin and its rejuvenation: products and procedures for the aging skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 6: 40–50.
- Rawlings, A.V. & Harding, C.R. (2004). Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic Therapy*, 17: 43–48.
- Rawlings, A.V., Harding, C.R., Watkinson, A., Scott, I.R. (2002). Dry and xerotic skin conditions. En: Leyden, J.J. & Rawlings, A.V. (eds). *Skin Moisturization*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc., 119–143.
- Rivera-Megret, F. "Pedido de datos" [en línea]. Mensaje en <luchip6@gmail.com>. 19 de agosto 2011; 20:22. Message-ID: <000a01cc5ec6\$cd887730\$17220a0a@CARLOSyMONICA>. Comunicación personal.
- Ritz-Timme S. & Collins M.J. (2002). Racemization of aspartic acid in human proteins. *Ageing Research Review*, 1: 43–59.
- Rodrigues, L. from EEMCO Group. (2001). EEMCO Guidance to the in vivo Assessment of Tensile Functional Properties of the Skin, Part 2: Instrumentation and Test Modes. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 14: 52–67.
- Rogiers, V. (1995). Efficacy claims of cosmetics in Europe must be scientifically substantiated from 1997. *Skin Research and Technology*, 1: 44-46.
- Rogiers, V., Balls, M., Basketter, D., Berardesca, E., Edwards, C., Elsner, P., et al. (1999). The potential use of non-invasive methods in the safety assessment of cosmetic products. *ATLA* 27: 515–537.

- Rona, C., Vailati, F. & Berardesca, E. (2004). The cosmetic treatment of wrinkles. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 3: 26–34.
- Ryu, H.S., Joo, Y.H., Kim, S.O., Park, K.C. & Youn, S.W. (2008). Influence of age and regional differences on skin elasticity as measured by the Cutometer. *Skin Research and Technology*, 14: 354–358.
- Salter, D. (1996). Non-invasive cosmetic efficacy testing in human volunteers: some general principles. *Skin Research and Technology*, 2(2): 59–63.
- Schmid, D., Muggli, R. & Züllli, F. (2001). Collagen glycation and skin aging. *Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide*, 1-6.
- Sephel, G.C. & Davidson, J.M. (1986). Elastin production in human skin fibroblast cultures and its decline with age. *Journal of Investigative Dermatology*, 86(3): 279-285.
- Shai, A., Maibach, H.I. & Baran, R. (2009). Skin Aging and Its Management. En: Shai, A., Maibach, H.I. & Baran, R. (eds.). *Handbook of Cosmetic Skin care* (2ª edición). Londres, UK: Informa Healthcare UK Ltd, 46-57.
- Silvera, L.A. & Barrios, C. (2002). La matriz extracelular: El ecosistema de la célula. *Salud Uninorte*, 16: 9-18.
- Simeon, A., Emonard, H., Hornebeck, W. & Maquart, F.X. (2000a). The tripeptide-copper complex glycyl-L-histidyl-L-lysine-Cu²⁺ stimulates matrix metalloproteinase-2 expression by fibroblast cultures. *Life Sciences*, 67: 2257–2265.
- Simeon, A., Wegrowski, Y., Bontemps, Y. & Maquart, F.X. (2000b). Expression of glycosaminoglycans and small proteoglycans in wounds: modulation by the tripeptide-copper complex glycyl-L-histidyl-L-lysine-Cu(2+). *Journal of Investigative Dermatology*, 115: 962–968.
- Skin Care Products (Creams, Lotions, Powders, and Sprays) (n.d) [en línea]. En: Cosmeticsinfo.org, a service of The Personal Care Products Council: <<http://www.cosmeticsinfo.org/glossary.php>>. Consultado en Octubre del 2011.
- Tagami, H. (2008). Functional characteristics of the stratum corneum in photoaged skin in comparison with those found in intrinsic aging. *Archives of Dermatological Research*, 300(1): S1-S6.
- Takahashi, M. (2001). Recent progress in skin bioengineering and its application to evaluation of cosmetics. *Cosmetic Dermatology*, 11(3): 110-126.
- Trotta, M., Peira, E., Debernardi, F. & Gallarate, M. (2002). Elastic liposomes for skin delivery of dipotassium glycyrrhizinate. *International Journal of Pharmaceutics*, 241: 319–327.
- Uitto J. (1989). Connective tissue biochemistry of the aging dermis. *Clinics in Geriatric Medicine*, 5: 127–147.

- Vanaja, K., Shobha Rani, R.H. & Sacchidananda, S. (2008). Formulation and clinical evaluation Of ultradeformable liposomes in the Topical treatment of psoriasis. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 25(1): 41–52.
- Varani, J., Dame, M.K., Rittie, L., Fligiel, S.E.G., Kang, S., Fisher, G.J. et al. (2006). Decreased collagen production in chronologically aged skin: Roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. *American Journal of Pathology*, 168(6):1861-1868.
- Verdier-Sévrain, S. & Bonté, F. (2007). Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 6: 75–82.
- Verma, D.D., Verma, S., Blume, G. & Fahr, A. (2003). Liposomes increase skin penetration of entrapped and non-entrapped hydrophilic substances into human skin: a skin penetration and confocal laser scanning microscopy study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55: 271–277.
- Verma, P., Ram, A., Jha, A.K., Mishra, A. & Thakur, A. (2010). Phosphatidylcholine: A revolution in drug delivery technology. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2(1): 1-12.
- Vierkötter, A., Ranft, U., Krämer, U., Sugiri, D., Reimann, V. & Krutmann, J. (2009). The SCINEXA: A novel, validated score to simultaneously assess and differentiate between intrinsic and extrinsic skin ageing. *Journal of Dermatological Science*, 53: 207–211.
- Von Oppen-Bezalel, L. (2009). Slowing Intrinsic and Extrinsic Aging: A Dual Approach. *Cosmetics and Toiletries® magazine*, 124(5): 80-84.
- Youn, S.W., Na, J.I., Choi, S.Y., Huh, C.H., Park, K.C. (2005). Regional and seasonal variation in facial sebum secretions: a proposal for the definition of combination skin type. *Skin Research and Technology*, 11: 189–195.
- Wa, C.V. & Maibach, H.I. (2010). Mapping the human face: biophysical properties. *Skin Research and Technology*, 16: 38–54.
- Waller, J.A & Maibach, H.I. (2006). Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure. *Skin Research and Technology*, 12: 145–154.
- Watson, R.E.B. & Griffiths, C.E.M. (2005). Pathogenic aspects of cutaneous photoaging. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 4: 230–236.
- Williams, A. (2003). Physical and technological modulation of topical and transdermal drug delivery. En: Williams, A. (ed). *Transdermal and Topical Drug Delivery: From Theory to Clinical Practice* (1ª edición.) London, UK: Pharmaceutical Press, 123-159.
- Wilhelm, K-P, Cua, A.B. & Maibach, H.I. (1991). Skin aging: effect on transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and casual sebum content. *Archives of Dermatological Research*, 127: 1806–1809.
- Wollenweber, E. & Dietz, V.H. (1981). Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry*, 20: 869–932.

- Yaar, M. & Gilchrest, B.A. (2003). Aging of skin. En: Freedberg, I.M., Eisen, A.Z., Wolf, K., Austen, K.F., Goldsmith, L.A. & Katz, S.I. (eds). *Fitzpatrick's dermatology in general medicine* (2ª edición). New York: McGraw-Hill: 1386–1398.
- Zhang, L. & Falla, T.J. (2009). Cosmeceuticals and peptides. *Clinics in Dermatology*, 27: 485–494.
- Zikmund, W.G. & Babin, B.J. (eds) (2009). Capítulo 8: Investigación por medio de encuestas. En: *Investigación de mercados* (9ª edición). México D.F., México: Cenage Learning Inc., 187-208.
- Zimble, M.S., Kokoska, M.S. & Thomas, J.R (2001). Anatomy and Pathophysiology of Facial aging. *Facial plastic surgery clinics of North America*, 9 (2): 179-187.
- Zorrilla, A.E. (2002). El envejecimiento & el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 21(3): 178-85.
- Zouboulis, C.C. & Makrantonaki, E. (2011). Clinical aspects and molecular diagnostics of skin aging. *Clinics in Dermatology*, 29: 3–14.