



Producto

**DELISENS™**

Fecha

**Mayo 2013**

Revisión

**3**



Pol. Ind. Camí Ral C/ Isaac Peral, 17  
08850 Gavà Barcelona (Spain)  
Tel. +34 93 638 80 00  
[www.lipotec.com](http://www.lipotec.com)  
[commercial@lipotec.com](mailto:commercial@lipotec.com)



# Índice

LA PIEL SENSIBLE ES UNA CONDICIÓN MOLESTA DE LA PIEL	3
LA PIEL COMO SISTEMA NEUROINMUNE	4
PAR-2 MEDIA LA INFLAMACIÓN NEUROGÉNICA Y EL PICOR	5
PAR-2 INDUCE LA SENSIBILIZACIÓN DE TRPV1	6
CGRP Y SP EN LA INFLAMACIÓN NEUROGÉNICA	7
ACTIVACIÓN DE PAR-2 Y RECUPERACIÓN DE LA FUNCIÓN BARRERA	8
DELISENS™, PIEL SENSIBLE SIN SEÑALES	9
<b>EFICACIA <i>IN VITRO</i></b>	
Inhibición de la actividad de PAR-2	10
Determinación de la liberación de CGRP de las neuronas DRG	11
Inhibición de la liberación de IL-6 e IL-8 inducida por PAR-2	12
Ensayo de fotoprotección	13
Ensayo de proliferación celular en queratinocitos humanos	14
Ensayo de cicatrización	15
Eficacia frente a alérgenos cosméticos	17
<b>EFICACIA <i>IN VIVO</i></b>	
Determinación del escozor inducido por capsaicina	18
Eficacia contra el escozor debido al ácido láctico	19
Evaluación de la hidratación de la piel	20
PROPIEDADES COSMÉTICAS	21
APLICACIONES COSMÉTICAS	21
<b>DATOS TÉCNICOS</b>	
Nombre INCI del ingrediente activo	22
Presentación y Conservante	22
<b>DATOS DE APLICACIÓN</b>	
Procesado	22
Incompatibilidades	22
Solubilidad	22
Dosis	22
REFERENCIAS	23



## La piel sensible es una condición molesta de la piel

Gran parte de la población tiene la **piel sensible**, que es una condición cutánea molesta que puede afectar negativamente a la calidad de vida. Los síntomas más característicos son **quemazón, hormigueo, dolor o picor**, y a veces, eritema y rubor, y pueden ser **inducidos por factores ambientales** (p.ej. contaminación, radiación UV, sequedad, calor), por el **estilo de vida** (p.ej. cosméticos, jabones), o por factores **psicológicos** (p.ej. estrés) u hormonales [1].

**La piel sensible puede empeorar y dar lugar a trastornos inflamatorios y/o pruríticos crónicos de la piel como Dermatitis Atópica (DA), piel seca y acné**, que comparten un patrón común de **deterioro de barrera y aumento de reactividad vascular**.

La **sopa inflamatoria** se refiere colectivamente a los productos liberados después del daño tisular y durante la inflamación. Esta sopa activa un tipo específico de neuronas sensoriales primarias liberando péptidos y neurotransmisores de sus terminales periféricos y **resultando en la sensibilización periférica de la piel** [2]. Estas sustancias, a su vez, actúan en células diana en la periferia como los mastocitos, células inmunológicas, queratinocitos, neuronas y el músculo liso vascular **produciendo inflamación**, que se caracteriza por **enrojecimiento, hinchazón, calor e hipersensibilidad empeorando la inflamación neurogénica** [3].

**El prurito** provoca el deseo de rascar la piel para contrarrestar el picor mediante estímulos ligeramente dolorosos, y puede aparecer como consecuencia de la inflamación. **El picor y el dolor comparten varios mecanismos neurofisiológicos y centros de procesamiento, y pueden inducir reacciones similares en la piel**. El picor se ha desarrollado como un sistema nociceptivo para eliminar los agentes

irritantes que agreden la piel (p.ej. parásitos, irritantes, alérgenos) [4].

**La inflamación aguda o crónica baja el umbral prurítico y por lo tanto causa la sensibilización periférica del picor**. Además, el estrés agudo y el estrés psico-emocional crónico pueden desencadenar o aumentar el prurito agravando y perpetuando el picor [4].



**Aunque el prurito es inducido por histamina en algunas dermatosis con picor, no es el mediador prurítico principal en algunos trastornos caracterizados por picor crónico como la dermatitis atópica [5].**



## La piel como sistema neuroinmune

Los estímulos sensoriales se transmiten al cerebro por los ganglios de la raíz dorsal (DRG) y la espina dorsal principalmente a través de fibras nerviosas primarias aferentes amielínicas tipo C del **sistema nervioso periférico, que contiene neuroreceptores sensoriales, resultando en picor o dolor en pruriceptores y nociceptores**, respectivamente.

Las **neuronas aferentes involucradas en el picor** se conocen como neuronas **pruriceptivas** (que pueden ser o no dependientes de la histamina). Las **relacionadas con el dolor** son las neuronas **nociceptivas**, que junto a las células inmunes están localizadas en el sistema neuroinmune.

**El receptor activado por proteasas 2 (PAR-2) se expresa en queratinocitos de la piel, neuronas aferentes y células inflamatorias** entre otras.

Las proteasas activan PAR-2 en neuronas nociceptivas resultando en la

sensibilización del receptor de potencial transitorio sensible a vanilloides 1 (TRPV1), que estimula la liberación de los neuropéptidos Sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP), llevando a la inflamación neurogénica (dolor). Por otra parte, la activación de PAR-2 en neuronas pruriceptivas liberan más CGRP y SP, que median la sensación de picor. Además, en queratinocitos, PAR-2 juega también un papel en la liberación de citoquinas como la Interleuquina (IL)-6 e IL-8, y está involucrado en el retraso de la recuperación de la función barrera.

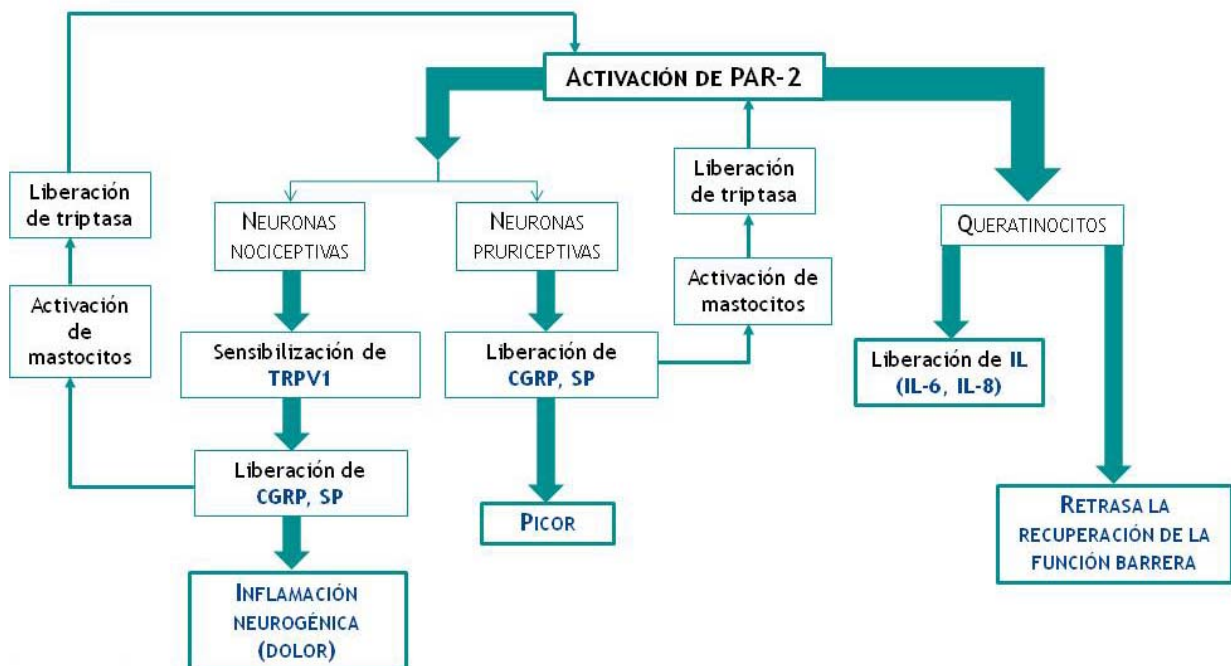


Fig. 1. Papel de PAR-2 en el sistema neuroinmune.

## PAR-2 media la inflamación neurogénica y el picor

Casi todas las células, sobre todo los queratinocitos, pero también las células endoteliales, los fibroblastos, las neuronas sensoriales y las células inflamatorias, expresan PAR-2 abundantemente, que se puede activar por proteasas y por compuestos no enzimáticos [6].

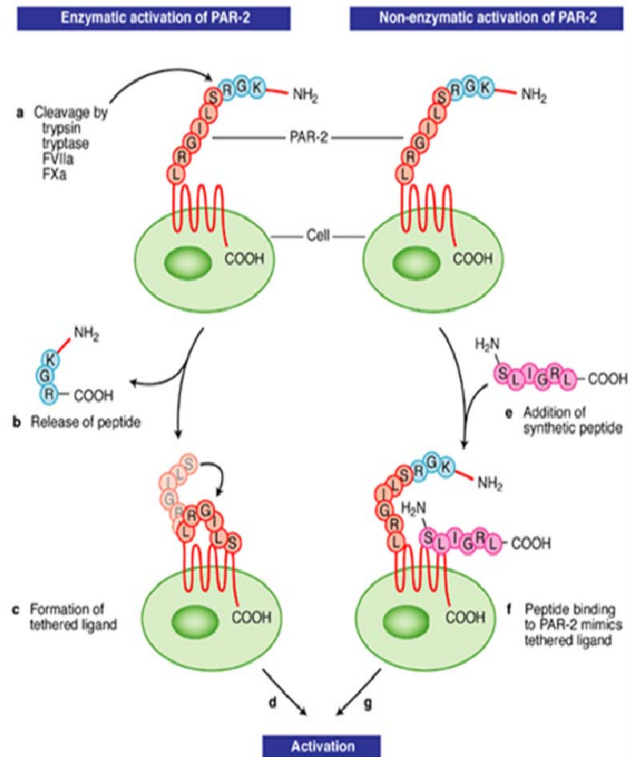
**Las proteasas** son más que enzimas que hidrolizan enlaces peptídicos de los aminoácidos; son mediadores que comunican con los nervios, **modulando la inflamación, el dolor y el prurito**. Las proteasas de las plantas (p. ej. polen), ácaros (p.ej. ácaros del polvo), o células inflamatorias humanas (p.ej. mastocitos) pueden inducir prurito y/o inflamación [4].

Ciertas proteasas actúan como moléculas de señalización escindiendo los miembros de la familia de proteínas G acopladas a receptores activados por proteasas (PARs) en el dominio extracelular N-terminal exponiendo ligandos que enlazan y activan los receptores escindidos [7]. Los **PARs** juegan papeles importantes en respuesta al daño tisular (**inflamación y reparación**) [8].

**PAR-2 se activa por serín proteasas, p.ej. tripsina y triptasa.** Durante la inflamación o la hipersensibilización **mediando la inflamación neurogénica y amplificando el prurito y/o el dolor** [6, 4, 8].

Durante la inflamación, los activadores endógenos de PAR-2 liberados lo activan también en células endoteliales e inflamatorias, queratinocitos y nervios dérmicos sensoriales amplificando la inflamación vía la regulación al alza de mediadores inflamatorios. La activación de **PAR-2 en queratinocitos aumenta la secreción de citoquinas inflamatorias como IL-6 y IL-8, mediando la inflamación en casos como exposición de la piel a alérgenos, proteasas microbiales exógenas o radiación UV** [6].

**En pacientes con DA, el picor no se puede suprimir con tratamientos histamínicos, sugiriendo que los mediadores no histamínicos podrían mediar el picor en DA** [5]. El PAR-2, la



Kawabata A. (2002) *Expert rev. Mol. Med.* 4 (16) 7

Fig. 2. Mecanismos de activación de PAR-2

La inhibición de la actividad de PAR-2 podría ser un nuevo enfoque para atenuar la inflamación y aliviar el picor.



## PAR-2 induce la sensibilización de TRPV1

La activación de PAR-2 aumenta la excitabilidad de las neuronas y puede sensibilizar sus respuestas a agonistas de otros receptores involucrados en procesos inflamatorios, como TRPV1, empeorando la inflamación y amplificando el dolor y el picor [9].

La sobreactivación de la familia de receptores de potencial transitorios (TRP) puede inducir dolor, quemazón y picor. Estos receptores sensoriales no sólo se expresan en las fibras nerviosas sensoriales de la piel, sino también en queratinocitos, lo que puede explicar por qué la **piel sensible responde a diferentes factores ambientales, físicos y químicos limitados a la piel y que pueden ser tratados por cosméticos** [1].

TRPV1 es un canal catiónico plasma-membrana no selectivo sensible al calor que **funciona como un termómetro molecular en la superficie celular** (umbral

de activación térmica de ~43 °C) [2]. **TRPV1 media las respuestas a los estímulos**, incluyendo calor, protones e irritantes químicos, como la capsaicina, que causa quemazón, dolor o prurito [10].

TRPV1 se expresa principalmente en fibras C sensoriales por neuronas nociceptivas aferentes primarias, así que **su sobreactivación puede iniciar la inflamación neurogénica liberando neuropéptidos en la periferia como CGRP y SP** [10]. Esto resulta en **la estimulación de mastocitos llevando a una mayor liberación de proteasas aumentando incluso más la activación de PAR-2** [7].

**PAR-2 activado induce la sensibilización de TRPV1 resultando en la liberación de citoquinas pruritogénicas a parte de afectar marcadamente la proliferación de queratinocitos y la diferenciación [4].**



## CGRP y SP en la inflamación neurogénica

La sensibilización de neuronas nociceptivas aferentes primarias debido a la sobreactivación de TRPV1 lleva a la liberación de neuropéptidos inflamatorios, como CGRP y SP, que están involucrados en la inflamación neurogénica. Por otro lado, los mediadores inflamatorios liberados pueden activar varias vías de señalización en el sistema nervioso periférico,  **aumentando la respuesta inflamatoria de la piel** [10].

La estimulación de las fibras C liberan SP y CGRP periféricamente y en la espina dorsal [3]. Estos neurotransmisores son liberados del terminal periférico induciendo vasodilatación y extravasación del plasma (pérdida de proteínas y fluido de vénulas postcapilares). También **interactúan con muchas células no neuronales**, incluyendo células endoteliales e inmunes, mastocitos y arteriolas [2, 3]. Éstas, a su vez, **aportan elementos adicionales a la sopa inflamatoria, como las citoquinas IL-6 e IL-8** [2].

**CGRP y SP actúan coordinadamente para causar inflamación cutánea y edema.**

CGRP interacciona con su receptor para estimular la vasodilatación arteriolar y el flujo sanguíneo, y la combinación de la hiperemia inducida por CGRP y la permeabilidad vascular inducida por SP resulta en edema. **CGRP también potencia la liberación de SP** de neuronas primarias aferentes de la espina dorsal **e inhibe la degradación de SP** por endopeptidasas neutras, aumentando sus efectos biológicos. **SP estimula la degranulación de mastocitos y la liberación de proteasas, activando PAR-2 y empeorando la inflamación neurogénica** [7].

**SP y CGRP también se liberan por la radiación UV, ya que los queratinocitos están sensibilizados induciendo la expresión de PAR-2, resultando en una mayor inflamación y picor** [11, 7].





## Activación de PAR-2 y recuperación de la función barrera

Una de las funciones principales de la epidermis es generar una barrera de permeabilidad que limita el movimiento transcutáneo de agua y electrolitos entre el ambiente externo y el organismo. Los lípidos, el colesterol y los ácidos grasos libres forman membranas lamelares en los espacios extracelulares del Estrato Córneo (EC) que limitan esta pérdida [12].

**El tratamiento tópico con productos químicos** (p. ej. solventes, detergentes), **o después de una lesión física** p.ej. por rascarse **puede eliminar lípidos extracelulares de la piel alterando la permeabilidad de la barrera cutánea**. Entonces, se inicia una respuesta homeostática de reparación en la epidermis subyacente. Las células del Estrato Granuloso (EG) secretan Cuerpos Lamelares (CL) en la interfaz EG/EC y rápidamente forman nuevos CL, acelerando la secreción de más CL [12]. Los CL son catabolizados en una mezcla no polar de ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres que se organiza para restaurar las membranas lamelares dentro de los intersticios del EC, normalizando la permeabilidad de la función barrera [13, 12].

**Las proteasas y el PAR-2 desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis de la barrera epidérmica. Las serín proteasas degradan las enzimas clave para el procesado de los lípidos requeridos para la homeostasis normal de la permeabilidad de la barrera** [6].

**La activación de PAR-2 es un señal clave para regular la secreción de CL** durante la respuesta de reparación después de la alteración de la barrera. **Tanto la inhibición como la ausencia de PAR-2 incrementan la secreción de CL y aceleran la reparación de la barrera** después de una alteración aguda. Por el contrario, **la activación de PAR-2 retrasa la recuperación de la barrera e inhibe la secreción de CL** [6].

Además, **la alteración aguda de la barrera aumenta transitoriamente el pH del EC** de sus niveles ácidos usuales (~ 5,0) a más neutros, **activando las serín proteasas en la epidermis**. El incremento de la actividad de las serín proteasas que resulta tanto de

la alteración de la barrera como del aumento de pH del EC **activa PAR-2** [13]. Se ha visto que el pH cutáneo elevado en piel envejecida es la causa de esta actividad [14].

Por otra parte, **la actividad proteolítica de alérgenos induce inflamación alérgica** y directamente afecta la estructura y la función de la barrera epidérmica. Pueden **romper la barrera cutánea vía PAR-2 facilitando la penetración de más alérgenos** a través de la barrera defectuosa de la piel, **propagando el círculo vicioso del defecto en la permeabilidad de la barrera mediado por proteasas** [6].

**Los trastornos crónicos inflamatorios de la piel presentan una función barrera dañada**. Por ejemplo, el incremento de actividad de las proteasas en DA conlleva descamación anormal, degradación de las enzimas procesadoras de lípidos, y activación de citoquinas primarias, conllevando disfunción de la permeabilidad de la barrera e inflamación [6].

**Disminuyendo la actividad de PAR-2 se podría mejorar la proliferación y la diferenciación de los queratinocitos, ayudando a reparar la función barrera de la piel** [6].





## DELISENS™, piel sensible sin señales

**DELISENS™** es un nuevo hexapéptido para cosméticos especialmente diseñado para piel sensible, que fue identificado por química combinatoria mediante un cribado de alto rendimiento (HTS). La librería combinatoria de péptidos fue cribada según la inhibición de la actividad de PAR-2 en un modelo celular de queratinocitos basado en la detección de fluorescencia por movilización del calcio.

El hexapéptido **disminuye la actividad de PAR-2 y como resultado la liberación de CGRP, IL-6 e IL-8** de las células de la piel, **atenuando la inflamación neurogénica y el picor**. Además, también contrarresta la liberación de citoquinas inducida por alérgenos cosméticos.

**DELISENS™ ayuda a recuperar la función barrera de la piel protegiendo los fibroblastos dérmicos humanos** frente la radiación UV, **estimulando la proliferación de queratinocitos y restaurando la integridad del tejido dañado**, ayudando a la **reepitelización y reparación de la piel dañada**.

**DELISENS™ redujo la sensación de dolor persistente, molestias, enrojecimiento, picor y calentamiento inducidos por el ácido láctico**, como se mostró *in vivo*. También mejoró el picor proporcionando un efecto calmante en la piel. Además, **alivió el picor y la quemazón de la capsaicina** en contacto con la piel.

En personas que padecían de piel muy seca en las piernas, **DELISENS™ mejoró la escamación, suavidad y la flexibilidad**. También **aumentó significativamente la hidratación**.

**DELISENS™ es un excelente candidato para disminuir la liberación de mediadores proinflamatorios inducidos por PAR-2, atenuando la inflamación neurogénica y el picor relacionado con la piel sensible, a parte de ayudar a restaurar la función barrera.**



## Eficacia *in vitro*

### INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE PAR-2

Se estudió la eficacia en la inhibición de la actividad de PAR-2 de DELISENS™ en queratinocitos humanos.

Se incubaron queratinocitos humanos con vehículo o DELISENS™ durante 1 h. Después de la incubación, se añadió a los pocillos 100 µL de una mezcla con el indicador Fluo-4 NW y Probenecid, y se incubaron 30 min. A continuación se activó PAR-2 por tratamiento con 1 µM de agonista I de PAR-2. Las células no tratadas activadas con un agonista de PAR-2 se usaron como control.

La activación de PAR-2 se evaluó por fluorescencia. Las medidas se obtuvieron con un fluorímetro FLUOstar Galaxy ( $\lambda_{exc} = 500 \text{ nm}$  y  $\lambda_{em} = 520 \text{ nm}$ ).

Se calculó la significación estadística mediante el análisis ANOVA y el test de Bonferroni.

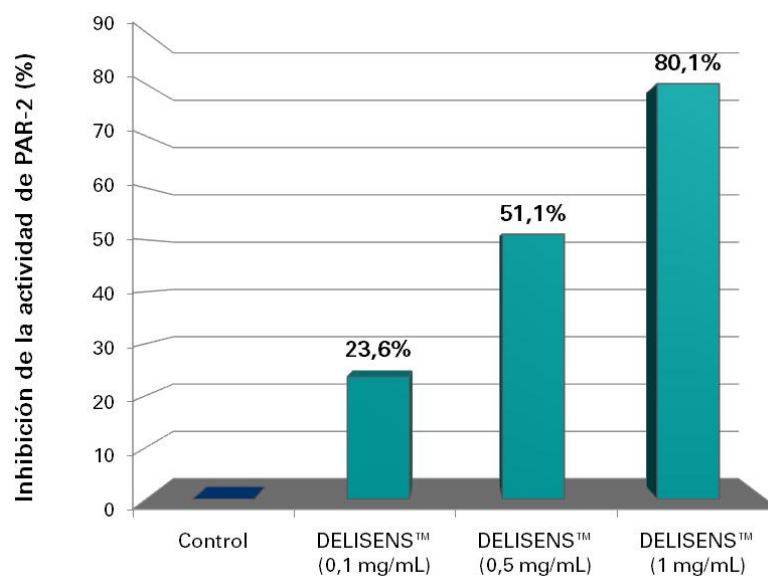


Fig. 3. Inhibición de la actividad de PAR-2 en queratinocitos humanos.

DELISENS™ presentó una **inhibición** significativa dosis-dependiente de la **actividad de PAR-2** alcanzando reducciones del **51,1%** y del **80,1%** cuando las células se trataron con 0,5 y 1 mg/mL respectivamente.

**DELISENS™** inhibe la actividad de PAR-2, alcanzando una disminución del 80,1% a 1 mg/mL.



### DETERMINACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE CGRP DE LAS NEURONAS DRG

La eficacia de inhibición de DELISENS™ en la liberación de CGRP mediada por TRPV1 se ensayó en neuronas DRG. PAR-2 sensibiliza TRPV1 bajando el umbral y así potenciando la liberación de CGRP de las DRGs.

Se incubaron las neuronas DRG con DELISENS™ en HBSS 15 min. Las neuronas se sensibilizaron con 30 µM de agonista de PAR-2 15 min. Se indujo la liberación de CGRP añadiendo 1 µM capsaicina durante 5 min. A continuación se recogieron los sobrenadantes y se determinó la cantidad de CGRP liberado inmediatamente después de su recogida por una técnica tipo sandwich de doble anticuerpo utilizando el kit Rat CGRP EIA.

Se leyó la absorbancia a 405 nm con un espectrómetro de microplacas. La intensidad del color amarillo formado es proporcional al CGRP presente en el pocillo. La mezcla de agonista I de PAR-2 y la capsaicina se usó como control positivo.

Se calculó la significación estadística mediante el análisis ANOVA y el test de Bonferroni.

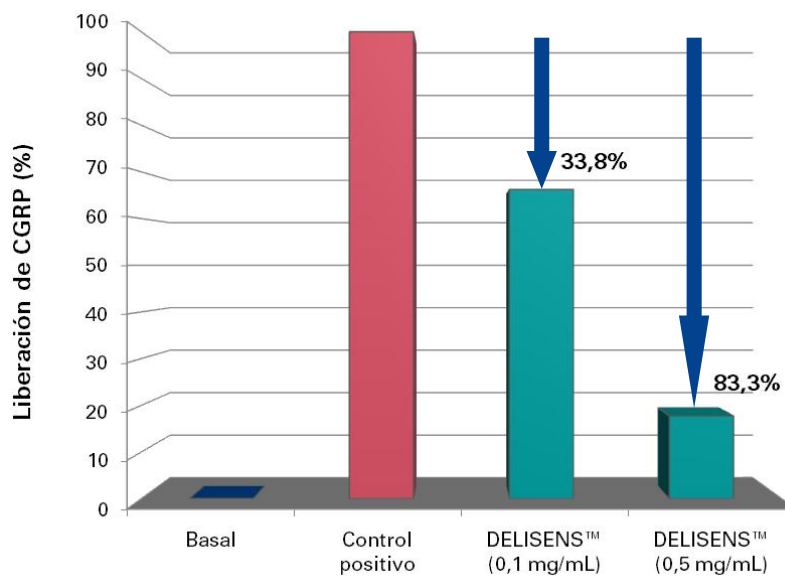


Fig. 4. Inhibición de la liberación de CGRP de neuronas DRG.

La liberación de CGRP fue significativamente inhibida por DELISENS™ **disminuyendo un 33,8% y un 83,3% a 0,1 y 0,5 mg/mL respectivamente.**

**DELISENS™ es un candidato adecuado para atenuar la inflamación neurogénica y el picor de la piel.**



### INHIBICIÓN DE LA LIBERACIÓN DE IL-6 E IL-8 INDUCIDA POR PAR-2

Durante la inflamación de la piel, la activación de PAR-2 amplifica la inflamación liberando citoquinas (p. ej. IL-6 e IL-8) en los queratinocitos.

Se sembraron queratinocitos epidérmicos humanos primarios (HEKa) en pocillos precubiertos de una matriz de colágeno suplementada con EpiLife® Medium. Después de 48 h, se quitó el medio y se incubaron las células con diferentes tratamientos o vehículo en presencia de 50 µM de un agonista de PAR-2 por 48 h a 37°C. Después del tratamiento, los sobrenadantes se recogieron y se determinó la cantidad de citoquinas liberadas inmediatamente después de la

recolección mediante un test ELISA utilizando anticuerpos específicos.

Los resultados se normalizaron por el ensayo de tinción de cristal violeta. Este valor es directamente proporcional al número de células en cada pocillo.

Se calculó la significación estadística mediante el análisis ANOVA y el test de Bonferroni.

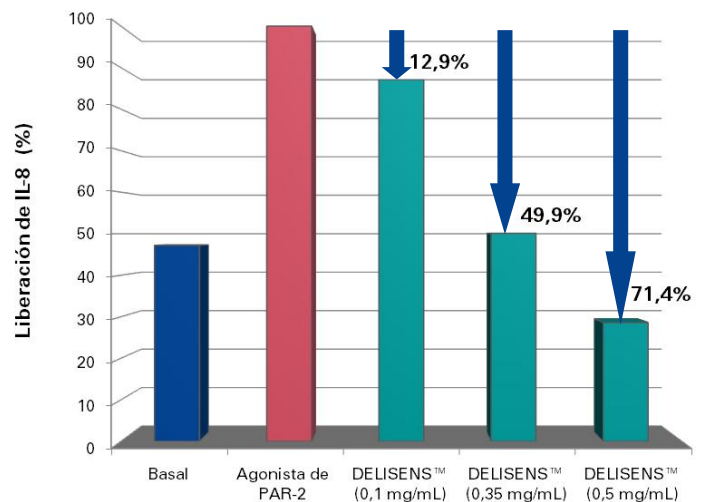
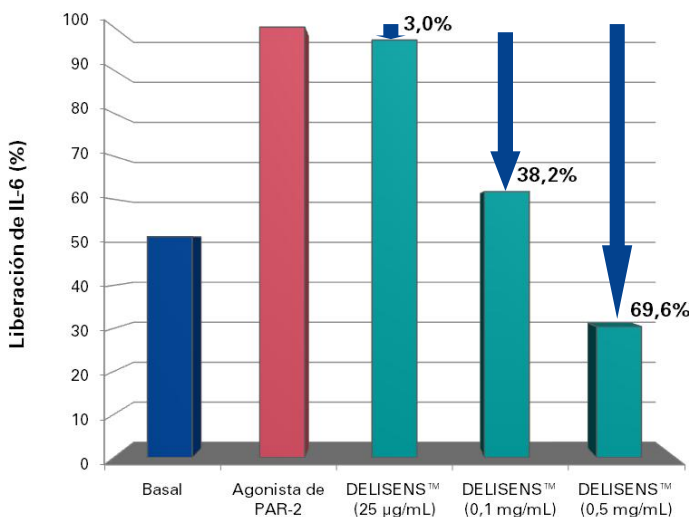


Fig. 5. Inhibición de la liberación de IL-6 e IL-8 de HEKa.

DELISENS™ fue capaz de **inhibir la liberación de IL-6 e IL-8 mediada por PAR-2 un 69,6% y un 71,4% respectivamente en queratinocitos primarios humanos tratados con 0,5 mg/mL DELISENS™**, llevando los niveles de citoquinas inflamatorias hasta niveles fisiológicos.

**DELISENS™ es un péptido excelente para el alivio de condiciones inflamatorias.**



### ENSAYO DE FOTOPROTECCIÓN

Se evaluó el efecto protector de DELISENS™ en presencia de una dosis citotóxica de luz solar simulada en fibroblastos dérmicos humanos (HDFa).

HDFa preincubados con 0,01 y 0,05 µg/mL DELISENS™ fueron irradiados (~36 J/cm²) durante 150 min. Las células no tratadas no expuestas y las no tratadas expuestas se usaron como controles.

La viabilidad celular se determinó después de 24 h por absorción de rojo neutro (NR), midiendo la densidad óptica a 540 nm en un espectrofotómetro.

El NR es un colorante catiónico débil que penetra rápidamente en las membranas celulares por difusión, acumulándose intracelularmente en los lisosomas. Las alteraciones de la superficie de la membrana sensible lisosomal conllevan fragilidad y otros cambios que se vuelven irreversibles, y resultan en una disminución de absorción de NR.

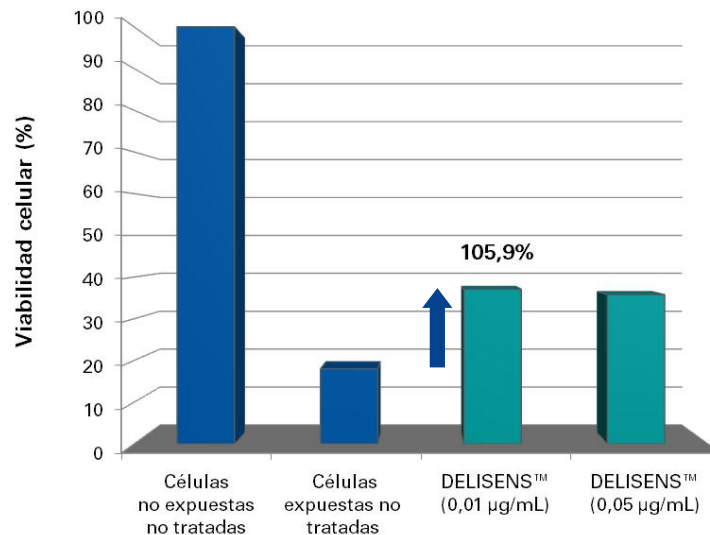
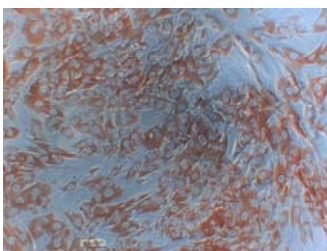


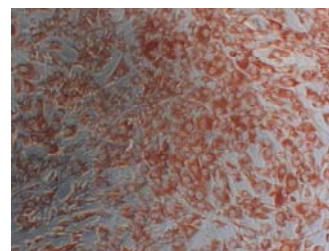
Fig. 6. Viabilidad celular de HDFa expuestos o no a irradiación en presencia o ausencia de DELISENS™.



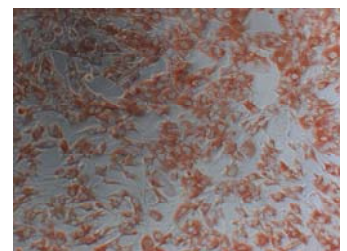
Células no expuestas no tratadas



Células expuestas no tratadas



DELISENS™ (0,01 µg/mL)



DELISENS™ (0,05 µg/mL)

DELISENS™ mostró un efecto protector significativo aumentando la viabilidad celular un 105,9% en células tratadas con 0,01 µg/mL respecto a células irradiadas no tratadas.

**DELISENS™ mostró un efecto protector significativo en HDFa frente el daño inducido por UV.**



### ENSAYO DE PROLIFERACIÓN CELULAR EN QUERATINOCITOS HUMANOS

Se realizó un ensayo de proliferación celular para evaluar los efectos de DELISENS™ sobre el crecimiento celular. El efecto estimulante de la proliferación en queratinocitos *in vitro* proporciona información acerca de beneficios cutáneos potenciales, como la mejora de la compacidad y la firmeza.

La proliferación celular en queratinocitos humanos, que habían sido preincubados previamente con DELISENS™, se evaluó mediante un método de viabilidad celular basado en la fluorescencia. Las células vivas se distinguieron por la presencia de actividad intracelular de la esterasa, determinada por la conversión enzimática de calceína AM permeante no fluorescente

a calceína intensamente fluorescente, que se mantiene en el interior de las células e imparte una intensa fluorescencia verde.

La fluorescencia se leyó a  $\lambda_{exc}=485$  nm y  $\lambda_{em}=530$  nm en un lector de placas (Genios, Tecan). Las células no tratadas (solamente con medio) se utilizaron como control.

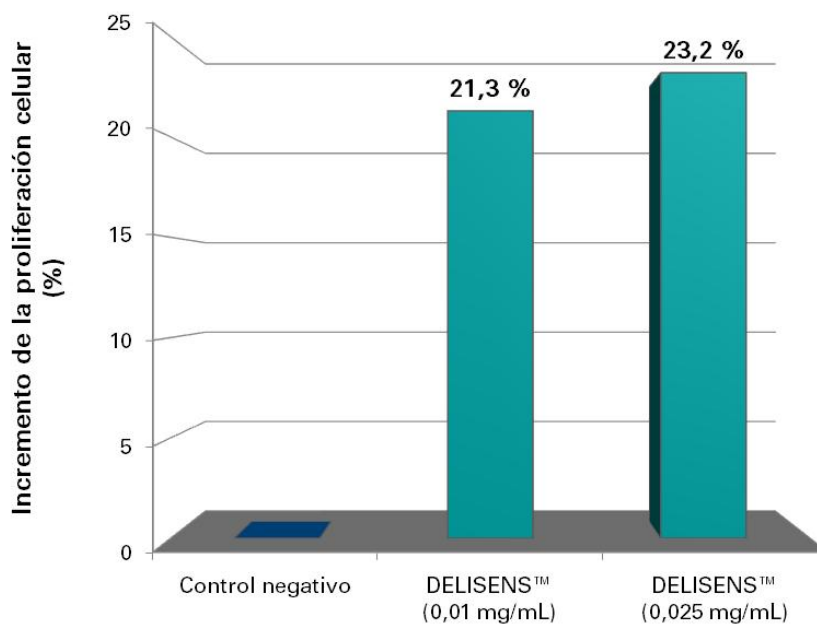


Fig. 7. Incremento de la proliferación celular inducida por DELISENS™ a diferentes concentraciones.

DELISENS™ **estimuló** significativamente el **crecimiento celular en queratinocitos humanos, aumentando la proliferación celular un 21,3% y un 23,2%** cuando se trataron las células con **0,01 y 0,025 mg/mL** respectivamente.

**DELISENS™ tiene efectos estimulantes significativos en la proliferación celular en queratinocitos humanos.**



### ENSAYO DE CICATRIZACIÓN

La cicatrización es un proceso dinámico y complejo que involucra mediadores solubles, células de la sangre, componentes de la MEC y células de la piel que finalmente resulta en la reparación de la integridad del tejido. La cicatrización ocurre en tres fases: inflamación, formación del tejido granular y remodelación.

Como los queratinocitos son responsables de la reepitelización, ensayos *in vitro* de cicatrización de heridas en queratinocitos humanos inducida por cosméticos proporcionan información sobre los efectos reparadores potenciales en piel dañada y en todo tipo de heridas.

Queratinocitos humanos fueron tripsinizados y sembrados. Después de 48 h de incubación se indujo una zona libre de células rascando con una punta de pipeta. Se añadió medio fresco con DELISENS™ y se dejó migrar las células en el espacio de la herida 48 h. Células no tratadas se usaron como control negativo y las tratadas con

DMEM y FBS se usaron como control positivo.

Se tomaron fotografías de las células al inicio y después de 48 h con un microscopio Zeiss Axiovert 40 CFL y una cámara AxioCam MRc5.

Las medidas obtenidas de diferentes fotografías se procesaron y se calcularon los porcentajes de cicatrización. Los resultados son la media de dos fotografías diferentes (software estadístico: GraphPad PRISM®).

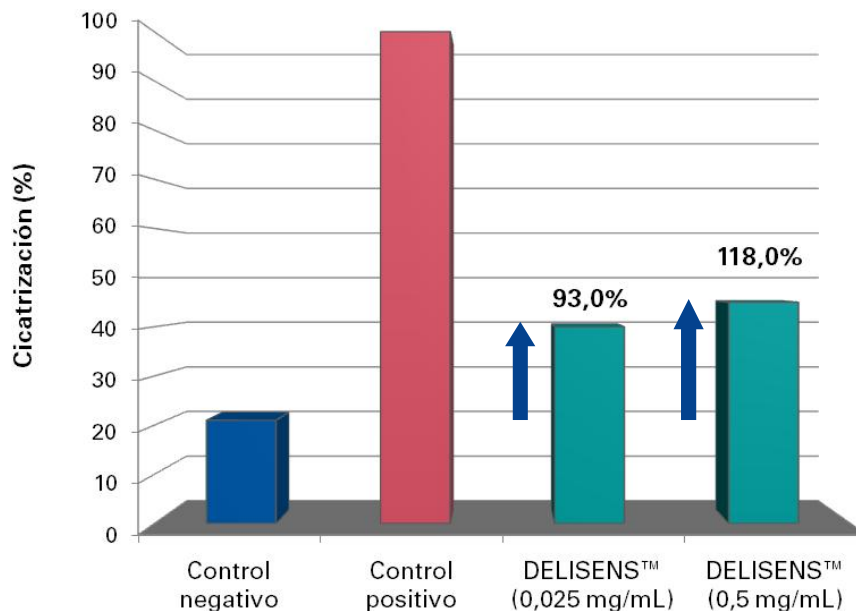
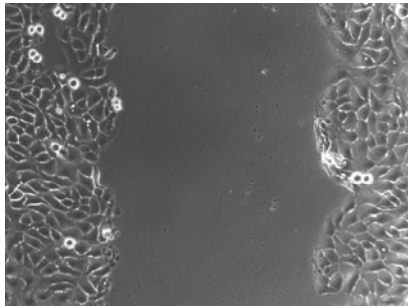
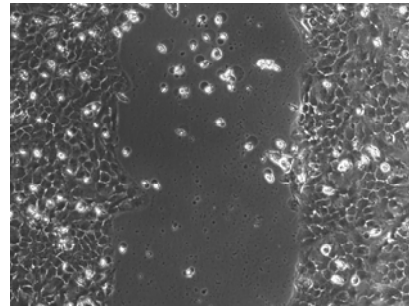


Fig. 8. Porcentaje de cicatrización inducida por DELISENS™ en queratinocitos humanos.

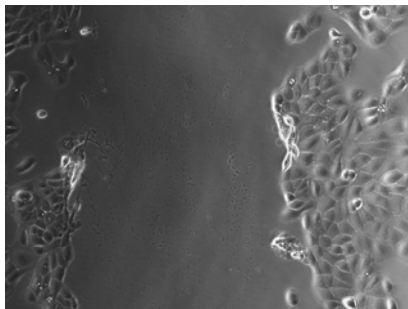
**DELISENS™ aceleró la cicatrización significativamente un 93,0% y un 118,0% después de 48 h cuando se trataron las células con 0,025 y 0,5 mg/mL, respectivamente.**



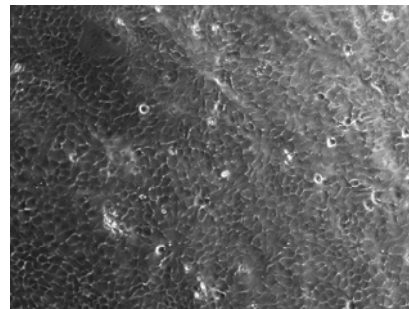
Control negativo 0 h



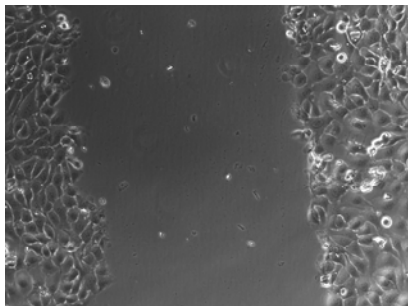
Control negativo 48 h



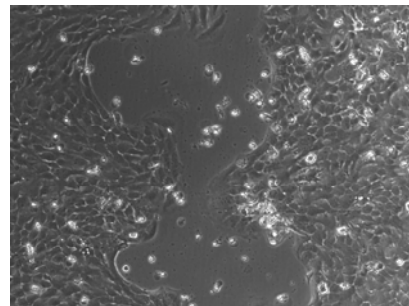
Control positivo 0 h



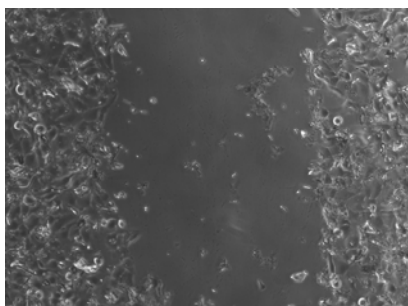
Control positivo 48 h



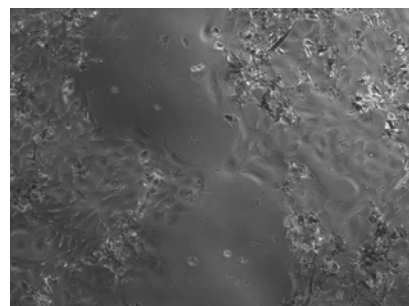
DELISENS™ (0,025 mg/mL) 0 h



DELISENS™ (0,025 mg/mL) 48 h



DELISENS™ (0,5 mg/mL) 0 h



DELISENS™ (0,5 mg/mL) 48 h

**DELISENS™** mostró ser un eficaz inductor de la cicatrización en queratinocitos humanos a las concentraciones testadas.





### EFICACIA FRENTE A ALÉRGENOS COSMÉTICOS

Este estudio se realizó para determinar si un crema con 4% DELISENS™ SOLUTION era capaz de contrarrestar la actividad de agentes prosensibilizadores en una formulación cosmética.

Tanto la crema con DELISENS™ como el placebo se formularon con agentes sensibilizadores: hexil cinamal y farnesol. Se aplicaron las cremas directamente sobre la superficie del epitelio de una epidermis humana reconstruida.

Tras la aplicación, los tejidos se mantuvieron a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, ≥ 95% HR y se incubaron en medio de crecimiento durante 24 h. Después, se quitó el producto y se limpió el epitelio con PBS.

Se guardó el medio donde se había cultivado la epidermis y se determinó la concentración de IL-8 con un test ELISA.

Se realizaron controles negativos con PBS y se consideró la crema placebo como control positivo.

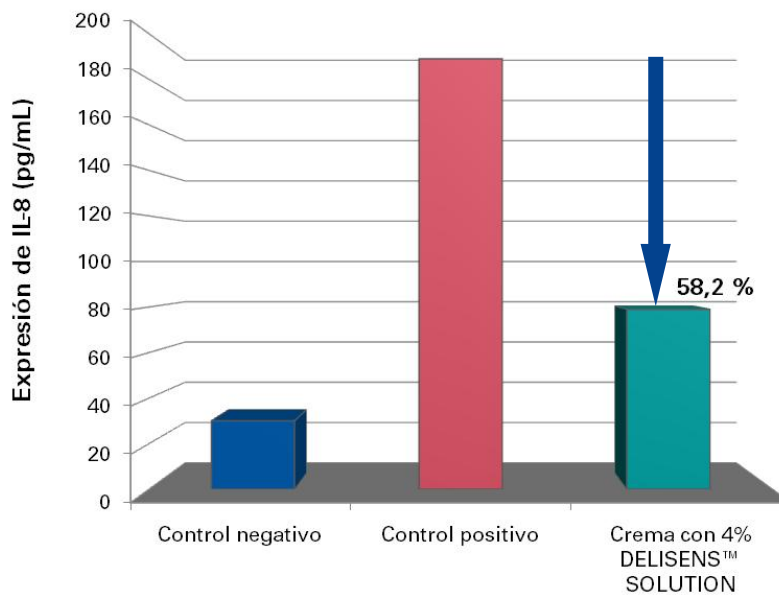


Fig. 9. Expresión de IL-8 en tejidos de epidermis reconstruida.

La **reducción de la expresión de IL-8** fue del **58,2%** cuando se trató la epidermis reconstruida con **la crema con DELISENS™ durante 24 horas** respecto la crema placebo.

**DELISENS™ probó contrarrestar en gran medida la liberación de citoquinas inducida por alérgenos cosméticos.**



## Eficacia *in vivo*

### DETERMINACIÓN DEL ESCOZOR INDUCIDO POR CAPSAICINA

Se evaluó la eficacia aliviadora del escozor de una crema con 5% DELISENS™ SOLUTION *in vivo*.

Un panel de 12 voluntarios (de edades entre 25 y 42) se preseleccionó por su sensibilidad a la capsaicina aplicando una solución al 0,03% de capsaicina en los antebrazos antes de la primera aplicación del producto.

Los voluntarios se aplicaron la crema con DELISENS™ SOLUTION en un antebrazo y una crema placebo en el otro durante 7 días dos veces al día.

Se aplicó un estímulo de solución al 0,03% de capsaicina en cada antebrazo después de los 7 días de tratamiento.

Los voluntarios puntuaron subjetivamente la tolerancia de 0 a 3 (nula-intensa) después de 15 y 30 minutos de aplicación de la capsaicina.

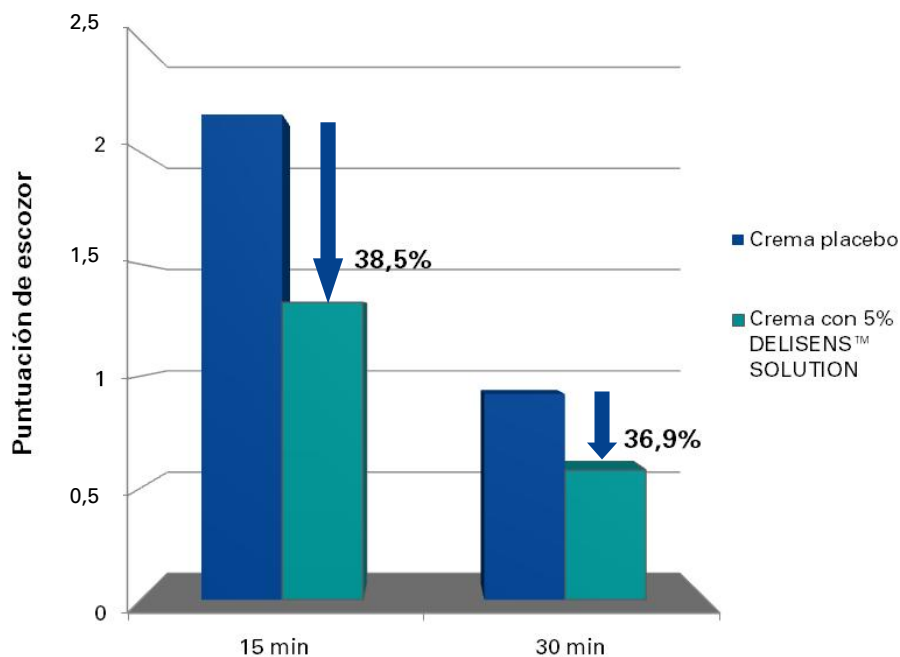


Fig. 10. Mejora de la puntuación del escozor por DELISENS™ después de exponer la piel a la capsaicina.

La **sensación de escozor en las áreas tratadas con DELISENS™ se redujo significativamente una media del 38,5% respecto la crema placebo después de 15 minutos de aplicar la capsaicina.**

**DELISENS™ es capaz de mitigar el escozor de la capsaicina en la piel.**



### EFICACIA CONTRA EL ESCOZOR DEBIDO AL ÁCIDO LÁCTICO

El objetivo de este estudio fue determinar la eficacia contra el escozor de una crema que contenía 2% DELISENS™ SOLUTION.

Un panel de 25 voluntarios (de 24 a 67 años) fue preseleccionados por su sensibilidad al escozor del ácido láctico.

Se aplicó una solución al 10% de ácido láctico en un lado del pliegue nasolabial y se evaluó el escozor. Después, los voluntarios se aplicaron la crema que contenía un 2% DELISENS™ SOLUTION en la cara y después de 1 h, se volvió a aplicar el ácido láctico y se evaluó el escozor. Los voluntarios se aplicaron la crema dos veces

al día durante 7 días y al final del tratamiento se determinó la eficacia contra el escozor aplicando el ácido láctico.

Los voluntarios puntuaron el escozor de 0 a 3 (nada-intenso) en presencia de un dermatólogo cada minuto durante 5 minutos. Si la suma de las puntuaciones a los 3 y a los 5 minutos era superior a 3, se consideró que los voluntarios eran sensibles al ácido láctico.

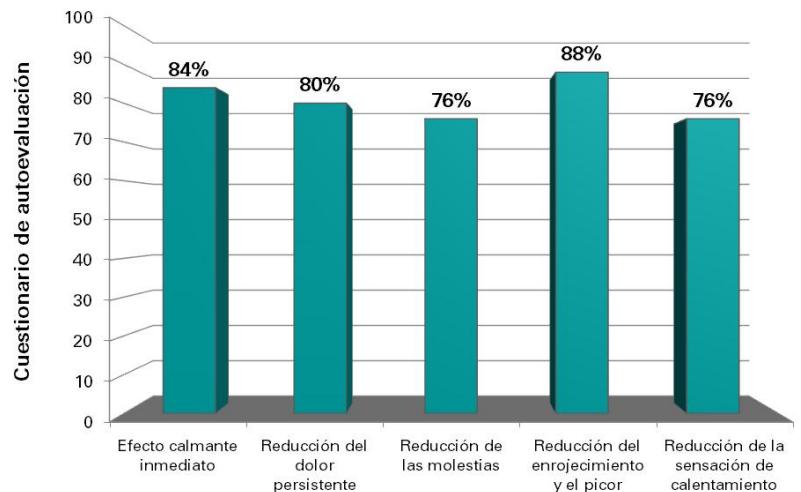
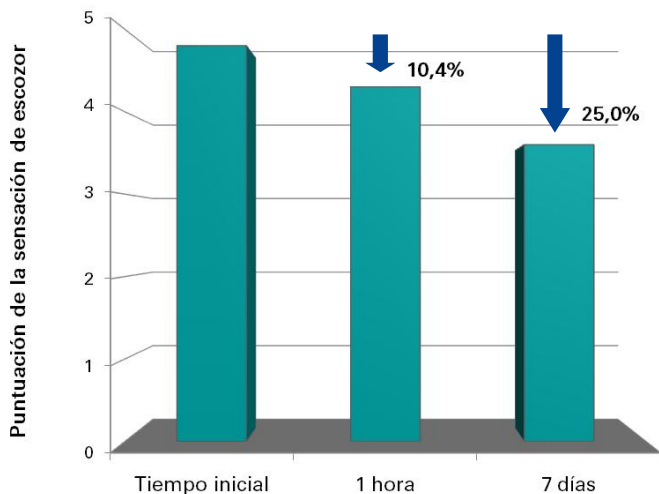


Fig. 11. Disminución de la puntuación de escozor gracias a DELISENS™ después de exponer la piel al ácido láctico y cuestionario de autoevaluación.

En tan solo **1 h** después de la primera aplicación de una crema con DELISENS™, el **escozor disminuyó una media del 10,4%** y el número de personas no sensibles al escozor fue del **16,0%**. Después de **una semana, la media de mejora del picor fue del 25,0%** y los **voluntarios considerados no sensibles al escozor fueron el 32,0%**. Además, la mayoría de voluntarios estuvieron de acuerdo en que sintieron un **efecto calmante inmediato** en la piel y una **reducción del dolor persistente, molestias, enrojecimiento, picor y sensación de calentamiento**.

**DELISENS™ proporcionó un alivio inmediato y a largo plazo de la sensación de escozor inducida por el ácido láctico.**



## EVALUACIÓN DE LA HIDRATACIÓN DE LA PIEL

Se evaluó *in vivo* la eficacia de una crema que contenía 2% DELISENS™ SOLUTION en mejorar la hidratación en piel sensible, que normalmente va acompañada de sequedad.

Un panel de 20 voluntarios (entre 18 y 55 años) con piel sensible y sensación de picor en las piernas se aplicaron una crema con 2% DELISENS™ SOLUTION en la pierna izquierda y una crema placebo en la otra dos veces al día durante 4 semanas.

Se tomaron los valores de hidratación de la piel antes de la primera aplicación y

después de 1 y 4 semanas con un corneómetro.

Un especialista entrenado realizó una evaluación de la sequedad, la escamación, la uniformidad, la suavidad y la flexibilidad de la piel.

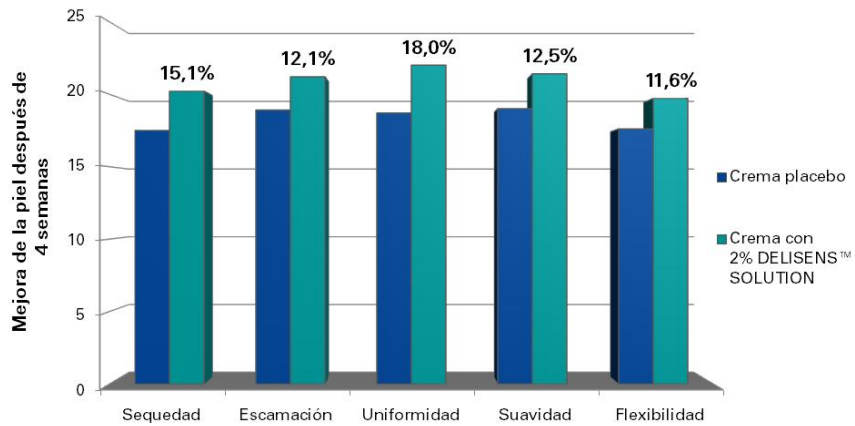
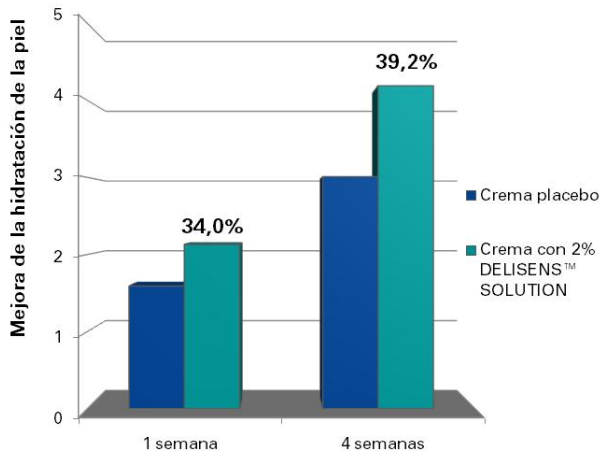


Fig. 12. Mejora de la hidratación de la piel después de aplicar una crema con DELISENS™ o una crema placebo. Mejora de varios parámetros después de 4 semanas de tratamiento con DELISENS™ o placebo.

La hidratación de la piel en las piernas tratadas con DELISENS™ aumentó significativamente una media de 34,0% y 39,2% más que con la crema placebo, después de 1 y 4 semanas respectivamente. Además, DELISENS™ mejoró la sequedad, la escamación, la uniformidad, la suavidad y la flexibilidad de la piel entre un 11,6% y un 18,0% más que la crema placebo.

**DELISENS™ aumenta la hidratación de la piel y mejora la sequedad, la escamación, la uniformidad, la suavidad y la flexibilidad.**



## Propiedades cosméticas

### DELISENS™:

- **disminuye la actividad de PAR-2 y como resultado la liberación de CGRP, IL-6 e IL-8** de las células de la piel, **atenuando la inflamación neurogénica y el picor.**
- **contrarresta** la liberación de citoquinas inducida por **alérgenos cosméticos.**
- **ayuda a recuperar la función barrera de la piel protegiendo** los fibroblastos dérmicos humanos frente la radiación UV, **estimulando la proliferación** de queratinocitos y **restaurando la integridad del tejido dañado**, ayudando a la **reepitelización y reparación de la piel dañada.**
- **proporciona un alivio inmediato y a largo plazo del escozor** inducido por el ácido láctico, **reduciendo la sensación de dolor persistente, molestias, enrojecimiento, picor y calentamiento.** Además, **mejoró rápidamente el escozor** una media del 10,4% y del 25,0% sólo 1 h después de la primera aplicación y después de una semana, proporcionando un efecto calmante inmediato en la piel.
- **mitiga el escozor y la quemazón de la capsaicina** en contacto con la piel. El escozor en las áreas tratadas con DELISENS™ se redujo significativamente un promedio del 38,5% respecto a una crema placebo después de 15 minutos de aplicar capsaicina.
- **aumenta la hidratación de la piel y mejora la sequedad, la escamación, la uniformidad, la suavidad y la flexibilidad**, mejorando entre un 11,6% y un 18,0% más que el placebo en personas que padecían de piel muy seca, e incrementando significativamente la hidratación de las piernas un promedio de 34,0% y 39,2% más que la crema placebo, después de 1 y 4 semanas respectivamente.

## Aplicaciones cosméticas



DELISENS™ puede incorporarse en formulaciones especialmente diseñadas para piel sensible donde se busca un efecto calmante y reparador como en cremas faciales y corporales, tratamientos para después del sol, que busquen atenuar la inflamación neurogénica y el picor de la piel.

También es adecuado para sérums o tratamientos destinados a recuperar la función barrera de la piel.



## Datos técnicos

### NOMBRE INCI DEL INGREDIENTE ACTIVO

Ingrediente activo	Nombre INCI
DELISENS™	Acetyl Hexapeptide-49

### PRESENTACIÓN Y CONSERVANTE

Solución que contiene un 0,025% de ingrediente activo.

Código	Presentación del producto	Conservante
PD230	DELISENS™ SOLUTION	Sin conservantes

## Datos de aplicación

### PROCESADO

DELISENS™ SOLUTION puede incorporarse a la fase acuosa conteniendo glicoles o tensioactivos en el último paso del proceso de fabricación. En caso de preparar una emulsión, se debería añadir después de que se haya formado. En ambos casos, se debe procurar que la temperatura no sobrepase los 40 °C.

DELISENS™ SOLUTION es estable en un rango de pH de 3,0 a 7,0.

### INCOMPATIBILIDADES

No se esperan.

### SOLUBILIDAD

DELISENS™ SOLUTION es soluble en glicoles (p.ej. glicerina, butilenglicol) pero insoluble en sólo aceites o sólo agua. Por ello, recomendamos añadirlo a geles o emulsiones con aceites, glicoles y tensioactivos que ayudan al péptido a no precipitar en la fase acuosa.

### DOSIS

Se recomienda una dosis de 2 a 5% de DELISENS™ SOLUTION en formulaciones finales.



## Referencias

---

1. Ständer S, Schneider SW, Weishaupt C, *et al.* Putative neuronal mechanisms of sensitive skin. *Exp Dermatol.* 18(5): 417 – 423, 2009.
2. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature.* 413(6852): 203 – 210, 2001.
3. Richardson JD, Vasko MR. Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *J Pharmacol Exp Ther.* 302(3): 839 – 845, 2002.
4. Paus R, Schmelz M, Bíró T *et al.* Frontiers in pruritus research: scratching the brain for more effective itch therapy. *J Clin Invest.* 116(5): 1174 – 1186, 2006.
5. Steinhoff M, Neisius U, Ikoma A *et al.* Proteinase-activated receptor-2 mediates itch: a novel pathway for pruritus in human skin. *J Neurosci.* 23(15): 6176 – 6180, 2003.
6. Lee SE, Jeong SK, Lee SH. Protease and protease-activated receptor-2 signaling in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Yonsei Med J.* 51(6): 808 – 822, 2010.
7. Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH *et al.* Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat Med.* 6(2): 151 – 158, 2000.
8. Dai Y, Moriyama T, Higashi T *et al.* Proteinase-activated receptor 2-mediated potentiation of transient receptor potential vanilloid subfamily 1 activity reveals a mechanism for proteinase-induced inflammatory pain. *J Neurosci.* 24(18): 4293 – 4299, 2004.
9. Amadesi S, Nie J, Vergnolle N *et al.* Protease-activated receptor 2 sensitizes the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid receptor 1 to induce hyperalgesia. *J Neurosci.* 24(18): 4300 – 4312, 2004.
10. Xu X, Wang P, Zou X *et al.* Increases in transient receptor potential vanilloid-1 mRNA and protein in primary afferent neurons stimulated by protein kinase C and their possible role in neurogenic inflammation. *J Neurosci Res.* 87(2): 482 – 494, 2009.
11. Yosipovitch G, Ständer S. Meeting report of the 3rd International Workshop for the Study of Itch. *J Invest Dermatol.* 126(9): 1928 – 1930, 2006.



12. Hachem JP, Houben E, Crumrine D *et al.* Serine protease signaling of epidermal permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol.* 126(9): 2074 – 2086, 2006.
13. Demerjian M, Hachem JP, Tschachler E *et al.* Acute modulations in permeability barrier function regulate epidermal cornification: role of caspase-14 and the protease-activated receptor type 2. *Am J Pathol.* 172(1): 86 – 97, 2008.
14. Voegeli R, Rawlings AV, Doppler S *et al.* Increased basal transepidermal water loss leads to elevation of some but not all stratum corneum serine proteases. *Int J Cosmet Sci.* 30(6): 435 – 442, 2008.

*Nota: Los gráficos y las fotografías que aparecen en este documento pueden ser utilizados por nuestros clientes si el producto final contiene la misma concentración de activo que la que figura en nuestros tests. Debe solicitarse permiso escrito para la utilización del material gráfico y de las marcas de Lipotec. Es responsabilidad del cliente el cumplimiento de las normativas referentes a la publicidad, tanto locales como internacionales.*

*La situación particular de la marca en cada país puede variar y se recomienda que nos contacten para obtener información actualizada.*

*Responsabilidades:*

*La información y datos incluidos en esta publicación están presentados en la consideración de su fiabilidad, de modo gratuito y siendo su finalidad meramente informativa, sin que presenten garantías de ninguna clase. Queda excluida cualquier garantía expresa o implícita. El receptor es únicamente responsable de asegurar que los productos comercializados para los consumidores cumplen con todas las leyes pertinentes y normativas aplicables. LIPOTEC es el titular exclusivo de los derechos de propiedad intelectual e industrial recogidos en la presente. El receptor de esta publicación acepta indemnizar y eximir de responsabilidad a todas y cada una de las entidades integrantes de la organización de LIPOTEC por todas y cada una de las acciones legales que se deriven del uso por parte del receptor de cualquier afirmación o información contenida en esta publicación, incluyendo, sin excluir, el uso de la misma en publicidad, datos contenidos en la etiqueta del producto final, y no utilizará esta publicación como prueba que justifique una reclamación de producto final ante cualquier autoridad legal.*