ESTUDIO PRECLÍNICO *EX VIVO* DE EXO TECH

- **ANÁLISIS DEL EFECTO DESPIGMENTANTE MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE MELANINA Y LA EVALUACIÓN DEL TEJIDO DE ESTUDIO**

Centro: Gaiker
Ref.: 8715

INTRODUCCIÓN

La piel está continuamente expuesta a las radiaciones ultravioleta (UV) por lo que son uno de los factores de riesgo para presentar cáncer de piel. La pigmentación de la piel es un mecanismo natural para proteger este órgano de la absorción de UV.

OBJETIVO: Evaluar la eficacia tópica despigmentante del exosoma despigmentante exclusivo de Martiderm con ácido tranexámico, niacinamida y extracto de gayuba, (en adelante Exo Tech), respecto a los ingredientes en forma libre (en adelante, ingredientes libres), mediante la cuantificación de melanina y el análisis visual histológico, en explantes de piel humana.

METODOLOGÍA:

1. Preparación de los grupos de tratamiento. Preparar 4 grupos de tratamiento a partir de los explantes de piel humana (hOSEC); 1) Piel control, 2) Piel irradiada, 3) Piel irradiada + ingredientes libres y, 4) Piel irradiada + Exo Tech.
2. Irradiación y tratamiento. Para el estudio se utilizan explantes de piel humana (hOSEC) control e irradiados. Los hOSEC irrradiados se obtienen mediante exposición de la piel a luz solar emitida por el simulador SOL 500, durante 20 minutos en total, cada día de irradiación a 2J/cm^2. Posteriormente, los productos de estudio se administran tópicamente sobre la superficie del explante de piel a una dosis de 2mg/cm^2.
3. Evaluación de la citotoxicidad para el estudio *ex vivo*. Determinar el estado y la viabilidad del tejido de los explantes humanos (hOSEC) tras la irradiación y la aplicación de las muestras de estudio mediante dos métodos. El ensayo colorimétrico sobre la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) que es un método cuantitativo que mide la cantidad de LDH liberada al medio tras dañar la membrana citoplasmática. A mayor liberación de LDH, mayor es el daño del tejido. Y, en segundo lugar, el ensayo de fluorescencia de la resazurina, que, mediante la evaluación de la tasa de reducción, en resorufina y dihidroresorufina, es indicador de viabilidad y proliferación celular.
4. Determinación cuantitativa del contenido de melanina. La solución de melanina se determina mediante el método ELISA en los explantes de piel tras el tratamiento y/o las irradiaciones. Los valores se expresan de forma semicuantitativa en µg/cm^2 de hOSEC.
5. Análisis histológico. Tras una serie de pasos para fijar, lavar y preparar las muestras de hOSEC, se tiñen mediante la tinción de Fontana-Masson para visualizar los depósitos de melanina.

RESULTADOS:

Actividad metabólica – Lactato Deshidrogenasa

Se considera a los hOSEC no tratados y no irradiados como el 100% de la concentración de LDH. Tras la simulación de irradiación solar se observó un aumento de LDH en hOSEC irradiado y no tratado, que se traduce en daño tisular. Finalmente, tras el tratamiento con las muestras de estudio, la concentración de LDH no aumentó respecto a hOSEC irradiado. Estos resultados avalan que los componentes de estudio no son citotóxicos.

Actividad metabólica - Resazurina

La **Figura 1** muestra los resultados obtenidos tras el ensayo.

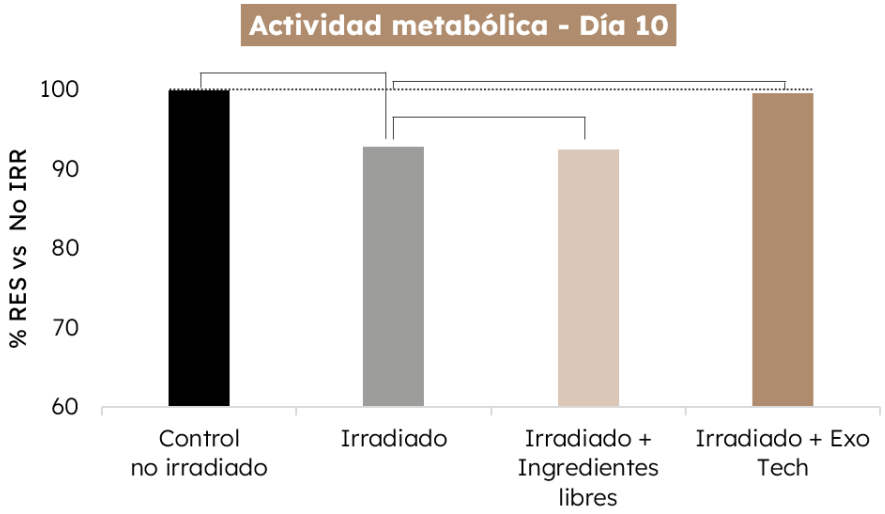


Figura 1. Ensayo de resazurina. Actividad metabólica del tejido en, control (no irradiado), irradiado, irradiado + ingredientes libres e irradiados + Exo Tech.

El ensayo de fluorescencia de la resazurina determinó que la irradiación UVA sobre el tejido, provoca una disminución de la actividad metabólica respecto al control no irradiado. Tras 10 días de incubación de los tejidos, irradiación y el tratamiento con las muestras de estudio, se determinó que los ingredientes libres no afectan a la actividad metabólica del tejido, sin embargo, el tratamiento con Exo Tech ayuda a recuperar la actividad metabólica basal del tejido. Estos resultados avalan el poder reparador de los exosomas tras el daño tisular mediante irradiación UVA.

Contenido de melanina

Tras analizar el contenido de melanina, después de irradiar el explante de piel, se observó un aumento del contenido de melanina respecto al control no irradiado, tal y como muestra la **Figura 2.**

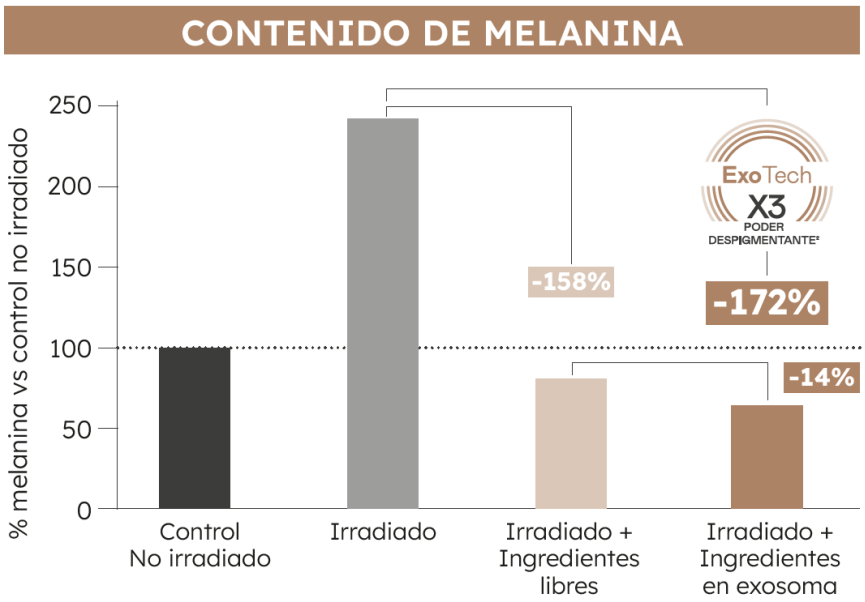


Figura 2. Contenido de melanina. En control (no irradiados), control irradiado, irradiado + ingredientes libres e, irradiado + Exo Tech *: diferencias estadísticamente significativas respecto a irradiado.

El tratamiento de los explantes de piel irradiados, tanto con los ingredientes libres como con Exo Tech disminuyen, de forma estadísticamente significativa, el contenido en melanina en un 158% y un 172%, respectivamente, respecto al nivel del control no irradiado, avalando así el poder despigmentante de ambos tratamientos. Así mismo, se demuestra que el exosoma potencia el efecto despigmentante que ya poseen los ingredientes seleccionados, ya que lo incrementa en un 14%.

Histología

La evaluación histológica y la tinción de Fontana-Masson permiten visualizar la distribución de la melanina en la dermis. La **imagen 1** muestra los cambios de distribución de melanina según los grupos de tratamiento.

El tejido del explante de piel irradiado muestra un aumento de la acumulación de melanina respecto al explante control no irradiado. Así mismo, el tratamiento con las muestras de estudio del tejido irradiado resulta en la disminución de la intensidad de tinción de melanina que se traduce en una menor acumulación y, por lo tanto, menor contenido de melanina en la dermis. La disminución en el contenido de melanina se observa de forma más evidente para la imagen D, el explante irradiado y tratado con Exo Tech.

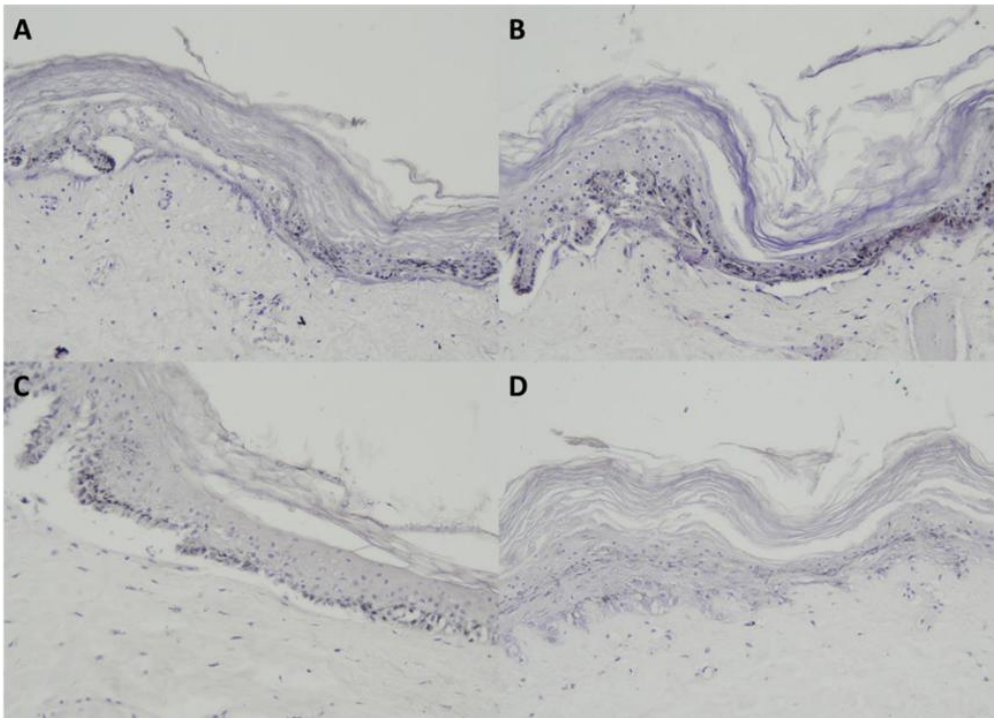


Imagen 1. Análisis histológico de los explantes de piel. **A:** control (no irradiado), **B:** irradiado, **C:** irradiado + ingredientes libres y **D:** irradiado + Exo Tech.

Por lo tanto, el análisis histológico muestra la eficacia despigmentante de ambos tratamientos de estudio y, en mayor medida de Exo Tech.

CONCLUSIÓN

Exo Tech, exosoma biomimético exclusivo de Martiderm con ácido tranexámico, niacinamida y extracto de gayuba:

- Protege el metabolismo celular del tejido para una función reparadora en la piel
- Reduce el contenido de melanina, que avala su eficacia despigmentante

Así mismo, del estudio comparativo con los ingredientes libres, se concluye que el exosoma, Exo Tech, incrementa la eficacia despigmentante en un 14% respecto a los ingredientes libres.

ESTUDIO CLÍNICO *IN VIVO* DE DSP-EXO MELAN

- **EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DESPIGMENTANTE, UNIFICADORA DEL TONO Y ANTI-REAPARICIÓN**
- **EVALUACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD BAJO CONTROL DERMATOLÓGICO**
- **EVALUACIÓN SUBJETIVA DE LAS CUALIDADES COSMÉTICAS Y DE SU EFICACIA**

Centro: Zurko

Fecha: noviembre 2024 - marzo 2025

Ref.: 03-ZP24-123-071

OBJETIVO: Determinar la eficacia despigmentante, unificadora del tono y anti-reaparición, así como evaluar la tolerancia y aceptabilidad cutánea, las propiedades cosméticas y la eficacia subjetiva de DSP-EXO MELAN después de su aplicación durante 84 días consecutivos según las condiciones normales de uso y 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio.

METODOLOGÍA

Diseño del estudio: estudio monocéntrico abierto, donde cada voluntario era su propio control.

Criterios de inclusión:

- 30 hombres y mujeres con piel sensible y no sensible, con presencia de manchas.
- Origen de manchas: manchas de embarazo/hormonales, manchas solares, manchas de la edad, marcas/cicatrices post-acné, etc.
- Edad entre 25 y 60 años
- Fototipos según clasificación de Fitzpatrick: I, II, III y IV

Modo de aplicación: aplicar el producto sobre el rostro limpio y seco por la mañana y por la noche. Y aplicar fotoprotector SPF50 + por las mañanas.

Eficacia despigmentante, unificadora del tono y anti-reaparición

Para la determinación de la eficacia despigmentante, unificadora del tono y anti-reaparición se llevó a cabo una valoración instrumental y una evaluación clínica.

1. Evaluación instrumental

Para la determinación de la eficacia despigmentante se determinó el índice de melanina en la zona pigmentada. Mientras que la uniformidad del tono se valoró como la diferencia de coloración respecto a la zona no pigmentada. Para ambas evaluaciones se tomaron medidas antes del inicio del estudio (D0), después de 56 días (D56) y a los 84 días (D84) de uso continuado. Además, para la eficacia anti-reaparición, se tomó una medición adicional el día 98 (D98), 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio, utilizando el equipo Mexameter® TM MX 18 (Courage & Khazaka, electronic).

2. Evaluación clínica

La pigmentación de las manchas fue evaluada mediante el promedio de la valoración de dos expertos clínicos de acuerdo con la puntuación de la siguiente escala la cual 0: ausencia de hiperpigmentación y 9: hiperpigmentación grave.

Además, para dar soporte visual a los resultados obtenidos y observar la evolución del uso del producto, se tomaron fotografías de siete participantes con el equipo VISIA antes del uso (D0), después de 56 días (D56) y a los 84 días (D84) de uso continuado. Además, se tomaron imágenes el día 98 (D98), 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio. Dichas imágenes se tomaron con luz visible, que evidencia las manchas en superficie y con luz UV que además de las manchas visibles permite ver las manchas en formación y que todavía no son perceptibles.

Evaluación de la tolerancia

El dermatólogo llevó a cabo una evaluación visual de la zona de aplicación de aplicación del tratamiento: al inicio del estudio (D0), a los 56 días de uso continuado (D56), a los 84 días (D84) y 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio (D98). Durante las diferentes evaluaciones, se analizó la posible aparición de alteraciones cutáneas relacionadas con el uso del producto. Además, se solicitó a los voluntarios que respondieran a un cuestionario de aceptabilidad

Evaluación de las cualidades cosméticas y eficacia subjetiva del producto

Los voluntarios respondieron a un cuestionario subjetivo a los 84 días (D84) de uso continuado y 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio (D98), valorando aspectos sobre las cualidades cosméticas y de eficacia del producto. Para cada aspecto, los voluntarios expresaron su nivel de satisfacción. Los resultados fueron expresados en porcentaje de voluntarios satisfechos.

RESULTADOS

Descripción de la población de estudio

Se incluyeron un total de 32 mujeres con presencia de manchas tales como manchas de embarazo/hormonales, manchas solares, manchas de la edad y marcas/cicatrices post-acné.

- Rango de edad: 29-60 años
- Tipo de piel: mixta (81%), seca (13%) y grasa (6%)
- Fototipos incluidos según clasificación de Fitzpatrick: II (19%), III (44%) y IV (38%)

Eficacia despigmentante y unificadora del tono

1. Evaluación instrumental de la eficacia despigmentante

La **Tabla 1** muestra los valores promedio en los voluntarios obtenidos tras la evaluación de la pigmentación de la piel, en forma de índice de melanina y uniformidad del tono después de 84

días de aplicación continuada y tras 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio (D98), en los diferentes tiempos de control (D0, D56, D84 y D98).

Tabla 1. Índice de melanina y unificación del tono.

Parámetro		D0	D56	D84	D98
Índice de melanina – Zona pigmentada	Media	254,00	209,73	210,22	206,68
	% Mejora vs D0		**17%***	**17%***	-
	% Variación vs D84				**2%***
	Mejora máxima		49%	40%	-
	% Vol. con mejora		94%	91%	-
Unificación del tono	Media diferencia coloración	63,23	50,68	51,96	46,43
	% Mejora vs D0		**20%***	**18%***	-
	% variación vs D84				**11%**
	% Mejora de los Vol. con mejora vs D0		36%	38%	-
	Mejora máxima		65%	86%	-
	% Vol. con mejora		72%	69%	-

D0: antes del uso del producto. **D56:** tras 56 días de aplicación continuada. **D84:** tras 84 días de aplicación continuada. **D98:** tras 14 días de haber dejado de aplicar el producto. **Vol.:** voluntarios del panel. **(*):** resultados estadísticamente significativos.

En general, el **índice de melanina** se redujo de forma estadísticamente significativa tras 56 y 84 días de uso en un 17% y hasta un 49% y 40%, respectivamente. Del mismo modo, la **unificación del tono** se redujo de forma estadísticamente significativa tras 56 y 84 días de uso en un 20% y un 18% y hasta un 65% y 86%, respectivamente.

Al no observarse variaciones estadísticamente significativas en el índice de melanina después de 14 días de haber finalizado la aplicación del producto de estudio (D98), se puede concluir que el producto presenta una eficacia en la prevención de la reaparición.

La **Tabla 2** muestra las ratios de mejora calculadas de los voluntarios con mayor mejora, para diferentes parámetros y diferentes tiempos de control.

Tabla 2. Ratios de mejora de voluntarios con mayor mejora.

Parámetro	Tiempos control	
Índice de melanina –Zona pigmentada	D0	D56
Pigmentación promedio	213	108
Ratio		1,97
Unificación del tono	D0	D84
ΔPigmentación promedio	21,34	2,66
Ratio		8,02

D0: antes del uso del producto. **D56:** tras 56 días de aplicación continuada. **D84:** tras 84 días de aplicación continuada.

Las **ratios de mejora** muestran como el índice de melanina se reduce a la mitad, lo que se traduce en "*una piel hasta dos veces más clara*". En cuanto a la unificación del tono, se observa que las *"manchas hasta ocho veces menos visibles"*.

La **Tabla 3** muestra los valores promedio obtenidos tras la evaluación de la uniformidad del tono de las manchas más oscuras, obtenidas de las voluntarias que presentan manchas más oscuras que el promedio de la población de estudio, para cada tiempo de evaluación (D0, D56, D84 y D98).

Tabla 3. Unificación del tono de las manchas más oscuras.

Parámetro		D0	D56	D84
Unificación del tono – Manchas más oscuras	Media diferencia coloración	78,41	56,43	56,74
	% Mejora vs D0		**28%***	**28%***
	Mejora máxima		65%	86%

D0: antes del uso del producto. **D56:** tras 56 días de aplicación continuada. **D84:** tras 84 días de aplicación continuada. **(*):** resultados estadísticamente significativos.

En general, la **unificación del tono de las manchas más oscuras** se redujo de forma estadísticamente significativa tras 56 y 84 días de uso en un 28% y hasta un 65% y 86%, respectivamente.

2. Evaluación clínica

La **Tabla 4** muestra los resultados promedio de los voluntarios de la valoración clínica sobre la eficacia despigmentante, después de 84 días de aplicación continuada y tras 14 días después de haber dejado de aplicar el producto de estudio (D98), en los diferentes tiempos de control (D0, D56, D84 y D98).

Tabla 4. Resultados de la evaluación clínica sobre la eficacia despigmentante.

Parámetro		D0	D56	D84
Evaluación clínica	Media	5,16	4,63	4,08
	% Mejora vs D0		**10%***	**21%***
	Mejora máxima		29%	43%
	% Vol. con mejora		69%	91%

D0: antes del uso del producto. **D56:** tras 56 días de aplicación continuada. **D84:** tras 84 días de aplicación continuada. **Vol.:** voluntarios del panel. **(*):** resultados estadísticamente significativos.

En general, la **intensidad de las manchas** se redujo de forma estadísticamente significativa tras 56 y 84 días de uso en un 10% y un 21% y hasta un 29% y 43%, respectivamente.

Evaluación de la tolerancia

El dermatólogo no observó ningún efecto adverso tras la aplicación del producto después de 98 días. Dos panelistas mostraron reacciones secundarias, no obstante, ambas reacciones fueron aisladas y se resolvieron por si solas. Por lo que DSP-EXO MELAN se clasifica, como un producto con muy buena aceptabilidad y compatibilidad cutánea.

Valoración subjetiva la eficacia cosmética

La **Figura 1** y la **Figura 2** muestran el porcentaje de voluntarios satisfechos con las cualidades cosméticas y la eficacia del producto de estudio tras 84 días de uso continuado del producto de estudio (D84).

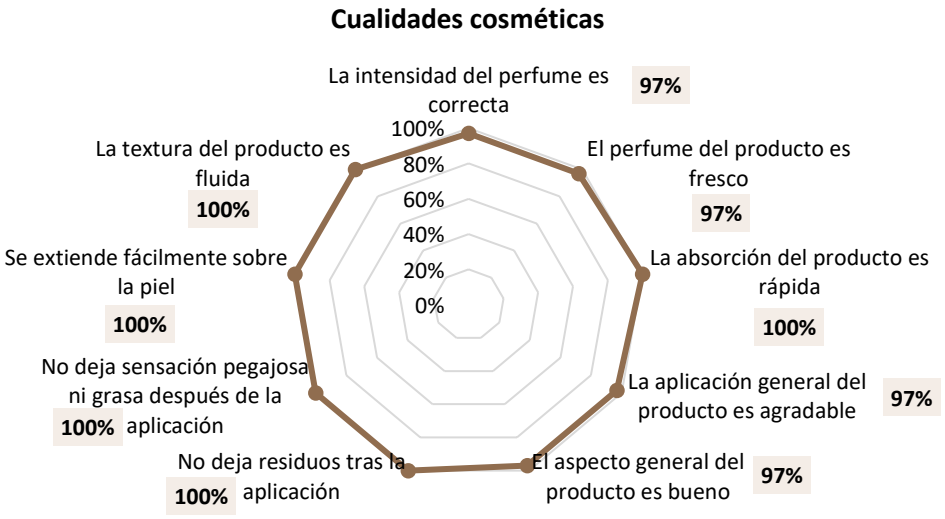


Figura 1. Resultados de la valoración de las cualidades cosméticas expresados en porcentaje de voluntarias satisfechas. **N=**32.

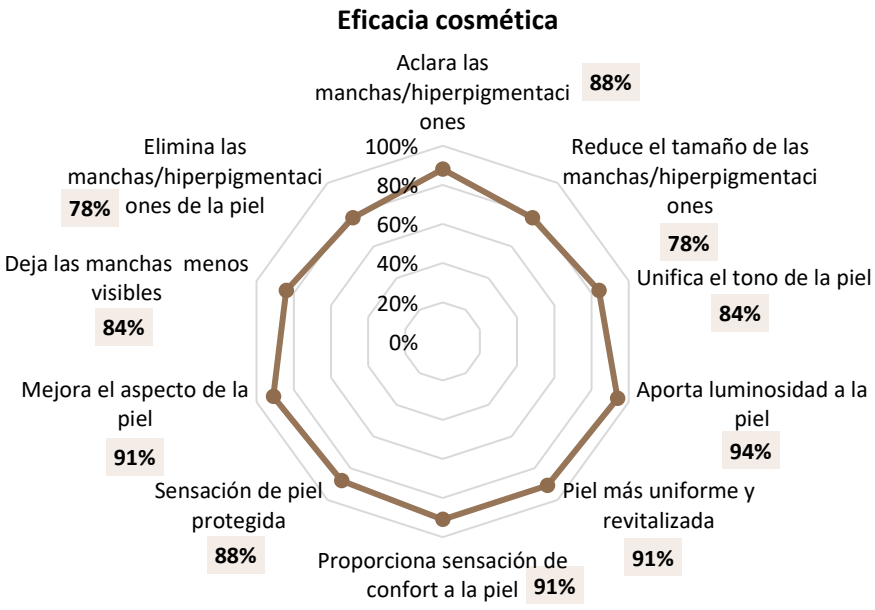


Figura 2. Resultados de la valoración de la eficacia subjetiva expresados en porcentaje de voluntarias satisfechas. **N=**32.

La **Tabla 5** muestra las respuestas de autovaloración sobre el momento en que empezaron a observar los resultados.

Tabla 5. Porcentaje acumulativo de voluntarios que indicaron cuándo empezaron a notar resultados.

Parámetro	1era semana	2nda semana	1 er mes	2 ndo mes	3 er mes	Final del tratamiento
Resultados visibles	13%	34%	81%	84%	84%	84%
Piel luminosa	25%	56%	84%	87%	87%	88%
Reduce el tamaño de las manchas/hiperpigmentaciones	3%	28%	75%	78%	81%	81%
Aclara las manchas/hiperpigmentaciones	6%	25%	78%	81%	84%	84%
Mejora el aspecto de la piel	31%	59%	84%	88%	88%	88%
Mejora la apariencia de las manchas	9%	34%	81%	84%	84%	84%
Unifica el tono de la piel	6%	22%	69%	78%	78%	78%

Final del tratamiento: después de 84 días de uso continuado. **N=** 32.

Tras dejar de aplicar el producto durante 14 días (D98), se evaluaron los siguientes aspectos:

- El **88%** opina que el producto de estudio previene la formación de nuevas manchas y mantiene la piel protegida frente a ellas
- El **97%** afirma que el tono de la piel se mantiene uniforme
- El **91%** considera que el efecto despigmentante se mantiene y que el tono de las manchas se mantiene uniforme

Macrofotografías:

En la **Figura 1** se puede observar cómo DSP-Exo Melan actúa en las manchas visibles de la superficie y en las que están en formación todavía no visibles.



Figura 1. Composición de imágenes tomadas con luz visible y filtro UV antes y después del uso continuado de DSP-EXO MELAN.

La **Figura 2** muestra las imágenes de tres casos representativos. Imágenes tomadas antes del inicio del estudio (D0) y tras 84 días de uso continuado del producto de estudio (D84).



Figura 2. Casos representativos de mejora de las pigmentaciones. **Voluntarias 01, 11, 22 y 31 respectivamente. D0:** imágenes tomadas al inicio del estudio. **D84:** imágenes tomadas después de 84 días de uso continuado.

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones experimentales adoptadas y tras 84 días de aplicación según las condiciones de uso habituales, es posible concluir que:

DSP-EXO MELAN **unifica el tono y mejora la pigmentación de la piel**. El producto de estudio mostró mejoras estadísticamente significativas en la reducción del índice de melanina del 17% con una mejora máxima del 40% tras 84 días de uso continuado. Así mismo, la uniformidad del tono mejoró 18% y hasta un 86%. También se realizó un análisis, en aquellos voluntarios que presentaban manchas más oscuras, lo que permite afirmar que DSP-EXO MELAN:

- *"Unifica el tono y mejora la pigmentación de la piel"*
- *"Altamente eficaz en manchas más oscuras"*

Además, a partir de estos resultados se han calculado las ratios **de mejora** de los voluntarios con mayor mejora, lo que permite afirmar que DSP-EXO MELAN proporciona:

- "*Una piel hasta dos veces más clara"*
- *"Manchas hasta ocho veces menos visibles"*

La mejora clínica, determinada por evaluadores expertos, fue del 21% y hasta el 43% para el grado de pigmentación, tras 84 días de uso continuado.

Según la **evaluación dermatológica** y acorde a la clasificación de tolerancia de productos cosméticos DSP-EXO MELAN tiene muy buena compatibilidad y tolerancia cutánea.

- *"Testado bajo control dermatológico"*
- *"Apto en pieles sensibles"*

En cuanto a la **valoración subjetiva** del producto, cabe destacar que, un porcentaje estadísticamente significativo de voluntarias considera que DSP-EXO MELAN:

- Aclara las manchas/ hiperpigmentaciones
- Unifica el tono de la piel
- Aporta luminosidad a la piel
- Piel más uniforme y revitalizada
- Proporciona sensación de confort a la piel
- Sensación de piel protegida
- Mejora el aspecto de la piel
- Deja las manchas menos visibles