

Seguridad de una formulación conteniendo micropartículas de quitosano con manzanilla: ensayo clínico, enmascarado y controlado*

Danielle Cristina Garbuio¹
Cristina Mara Zamarioli²
Maísa Oliveira de Melo³
Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos³
Emília Campos de Carvalho²
Luis Alexandre Pedro de Freitas³

Objetivo: evaluar la seguridad de una formulación tópica, conteniendo micropartículas de manzanilla revestidas con quitosano, en la piel de participantes sanos. Método: ensayo clínico fase I, enmascarado, controlado, no aleatorizado, de dosis única, con controles de la piel, de la base de la formulación y de la formulación con micropartículas. Las variables analizadas fueron irritación e hidratación por medio de los tests de Wilcoxon y Kruskal-Wallis. Resultados: iniciaron el estudio 35 participantes con edad media de 26,3 años. De esos, 30 (85,71%) eran del sexo femenino, 29 (82,90%) blancos y 32 (91,40%) sin patologías previas. Un participante fue descontinuado por referir eritema en el local de aplicación y cuatro por no comparecer a la última evaluación. En los 30 participantes que finalizaron el estudio, la formulación test no causó eritema, descamación, ardor, prurito o dolor; hubo mejora en la hidratación cutánea en el local de aplicación de la formulación con las micropartículas. En la evaluación de la función barrera hubo aumento de la pérdida transepidérmica de agua en todos los locales. Conclusión: la formulación con micropartículas de manzanilla es segura para el uso tópico, no provocando irritación y mejorando la hidratación cutánea a lo largo de cuatro semanas de uso. Sus efectos en la función barrera deben ser mejor estudiados. N° RBR-3h78kz en el Registro Brasileiro de Ensayos Clínicos (ReBEC).

Descriptores: Matricaria; Fármacos Dermatológicos; Prevención y Control; Enfermería; Ensayo Clínico; Plantas Medicinales.

* Artículo parte de tesis de doctorado "La prevención de las lesiones cutáneas: desarrollo de la formulación tópica de micropartículas de quitosano con Chamomilla recutita (L.) rauschert y los estudios preliminares de su uso", presentada en la Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Centro Colaborador de la OPS/OMS para el Desarrollo de la Investigación en Enfermería, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Apoyo financiero del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil.

¹ Universidade Anhanguera, Valinhos, SP, Brasil.

² Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Centro Colaborador de la OPS/OMS para el Desarrollo de la Investigación en Enfermería, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³ Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Cómo citar este artículo

Garbuio DC, Zamarioli CM, Melo MO, Campos PMBGM, Carvalho EC, Freitas LAP. Safety of a formulation containing chitosan microparticles with chamomile: blind controlled clinical trial. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2018;26:e3075. [Access ____-____-____]; Available in: _____. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1518-8345.2648.3075>.

mes día año

URL

Introducción

La piel, frontera del cuerpo humano con el medio externo, carga parte de nuestra identidad, presenta informaciones de nuestra edad, de la genética, del estado de salud, de estilos de vida y hasta mismo de nuestro estado emocional⁽¹⁾. Posee distintas funciones, dentro de ellas, la función barrera, la termorregulación, la síntesis de vitamina D y también la protección del cuerpo contra daños⁽²⁻³⁾.

Actualmente hay un creciente interés en productos para la piel y sus propiedades protectoras y cicatrizante, destacándose los que presentan en su composición extractos botánicos⁽⁴⁾. Dentro de esos extractos botánicos, el de *Chamomilla recutita* (L.) rauschert (manzanilla), planta conocida popularmente⁽⁵⁾, que tiene su uso como fitoterápico liberado por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA)⁽⁶⁾, posee en su composición flavonoides, siendo la apigenina y la apigenina-7-glicosídeo los más abundantes⁽⁷⁾. Esas sustancias demostraron, en diferentes estudios, potenciales antimicrobiano⁽⁸⁾, analgésico⁽⁹⁾, anti-inflamatorio^(6,8,10-11), cicatrizante⁽¹²⁻¹³⁾, antitumoral⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ e inmune-modulador⁽¹⁶⁾. Además, la mixtura de antioxidantes presentes en el extracto de la manzanilla es eficaz para disminuir los radicales libres y presenta potenciales beneficios en la utilización en formulaciones para la piel, por medio de la reducción de las pérdidas de agua, de la mejora en la hidratación y en el auxilio al mantenimiento de la función de barrera⁽⁴⁾.

Los riesgos asociados al uso de esa planta son pequeños y están relacionados con la reducción de la agregación plaquetaria⁽¹⁷⁾ y reacciones anafilácticas a personas sensibles a sus componentes⁽¹⁸⁾. Entre tanto, un reciente estudio, que evaluó reacciones alérgicas a compuestos herbales en los últimos 27 años, no encontró ningún relato con *Chamomilla recutita* (L.) rauschert⁽¹⁹⁾.

A pesar de sus potencialidades, la apigenina y la apigenina-7-glicosídeo tienen baja estabilidad^(15,20-22), y una alternativa para mejorar esa cuestión es la utilización de sistemas de liberación controlada. El sector farmacéutico, en consonancia con la evolución tecnológica, viene mejorando los procesos de obtención de insumos, e invirtiendo en la forma de producción y de aplicación de los distintos productos obtenidos. Para este fin, la micro-encapsulación es una tecnología muy usada, que visa a la optimización de los procesos industriales, así como el aumento de la biodisponibilidad y de la estabilidad de las formulaciones. Ese proceso puede ser realizado por diferentes métodos, utilizando diversos revestimientos. En este estudio, el revestimiento seleccionado fue el quitosano y el método de obtención fue el *spray drying*⁽²¹⁾.

El quitosano es un polisacárido hidrofílico, bio-compatibile, biodegradable, de baja toxicidad, con propiedades muco-adhesivas y de formación de filme⁽²³⁾. Estudios apuntan a su potencial en la utilización para

tratamiento de lesiones de piel con resultados positivos en la cicatrización y en la respuesta inflamatoria⁽²⁴⁻²⁸⁾. Además, ese polímero fue utilizado, en estudio, como revestimiento de micropartículas conteniendo factores de crecimiento endotelial y epidérmico, con resultados positivos en la mejora del proceso de cicatrización⁽²⁹⁾; y también, como revestimiento de micropartículas capaces de capturar y expandir células específicas con la finalidad de acelerar los procesos anti-inflamatorios y de cicatrización⁽³⁰⁾.

En todas las potencialidades de las micropartículas revestidas con quitosano y de las propiedades terapéuticas de la manzanilla, no se identificaron en la literatura estudios con estos compuestos. Además, esas micropartículas están incorporadas en formulación a base de lanolina, una sustancia de uso seguro para aplicaciones tópicas, incorporando diversos agentes bio-activos⁽³¹⁾.

Frente a lo expuesto, fue propuesto un estudio con el objetivo de evaluar la seguridad de esta formulación tópica, conteniendo micropartículas de *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert revestidas con quitosano, para aplicación en la piel de voluntarios sanos, por medio de las siguientes variables: eritema, variaciones en la cantidad de melanina, descamación, ardor, prurito, dolor y alteraciones en la hidratación cutánea. La hipótesis sugerida fue que la utilización de esta formulación sería segura para aplicación cutánea a lo largo de cuatro semanas de uso.

Método

Ensayo clínico fase I, enmascarado, controlado y sin aleatorización, de dosis única, en el cual una dosis baja, pero con actividad biológica del principio activo, fue administrada⁽³²⁾.

Para el desarrollo de las micropartículas utilizadas en este estudio fueron aplicadas las metodologías de extracción⁽³³⁾ y microencapsulación desarrolladas y validadas en estudio previo⁽²¹⁾. También, en otro estudio desarrollado por la autora principal, fueron realizados los tests de calidad de la planta adquirida, siguiendo las orientaciones de la Farmacopea Brasileira⁽³⁴⁾, así como tests preliminares de permear la formulación en modelo *ex vivo* y de estabilidad.

Las formulaciones fueron preparadas en el Laboratorio de Desarrollo Industrial Farmacéutico en la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo (LADIFARP/FCFRP/USP). La Formulación con Manzanilla (F1) poseía 99,8% de Lanolina y 0,2% de micropartículas, y la Formulación sin Manzanilla (F2) poseía 100% de Lanolina. La dosis de manzanilla en las micropartículas y consecuentemente, en la formulación fue seleccionada a partir de las directrices establecidas por la ANVISA⁽⁶⁾ para la cantidad de apigenina-7-glicosídeo.

Los criterios de inclusión de los participantes fueron: edad (18 años o más); piel sana en las regiones de aplicación del producto (antebrazos); ausencia de historia de hipersensibilidad a pescados, frutos de mar o a algún componente de la formulación (manzanilla, quitosano o lanolina); no estar usando de heparina, anticoagulantes orales y antiagregadores plaquetarios. Los criterios de exclusión fueron: lesión en los locales de aplicación, ganas expresa de interrumpir la participación o a no aplicación del producto por más de cuatro días consecutivos.

Para el tamaño de la muestra fueron consideradas las recomendaciones nacionales⁽³⁵⁾ e internacionales⁽³²⁾ sobre estudios que visan las evaluaciones iniciales sobre tolerancia y seguridad en humanos sanos, siendo recomendable la participación de 20 a 100 individuos.

El estudio fue realizado en conjunto con el Núcleo de Estudios Avanzados en Tecnología de Cosméticos, en la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto, de la Universidad de São Paulo (NEATEC/FCFRP/USP), cuyo laboratorio está equipado para los análisis cutáneos realizados. Los participantes fueron reclutados por medio de una invitación realizada personalmente por el investigador principal en las dependencias de la universidad durante el período de agosto a septiembre de 2015.

Los cuatro locales de evaluación de cada participante fueron: dos controles de la piel sin la aplicación de cualquier producto, siendo uno en cada antebrazo (C1 y C2), un control de formulación (F2) y un experimental (F1). Por lo tanto, cada participante presentaba cuatro locales de evaluación, siendo dos con formulaciones y dos sin formulaciones (Figura 1).

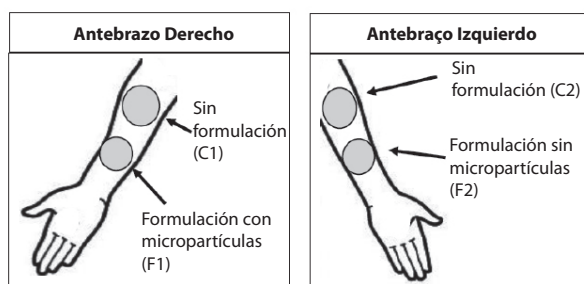


Figura 1. Esquema de los locales de aplicación del producto y controles y de evaluación de la piel

Para la aplicación de las formulaciones, los procedimientos fueron estandarizados de la siguiente manera: el local de la aplicación debería estar libre de cualquier tipo de mancha, lesiones, irritaciones o escoriaciones, conforme establecido en los criterios de inclusión; la cantidad de formulación fue pre-determinada en la punta de una espátula y fue aplicada

separadamente, la formulación 1 (F1) en la fase anterior del antebrazo derecho y la formulación (F2) en la fase anterior del antebrazo izquierdo; en la porción proximal de ambos no fue aplicado ningún producto, para permitir la evaluación de las condiciones de la piel (control negativo derecho – C1; control negativo izquierdo – C2). La posología de aplicación fue de una vez al día, siempre en el mismo horario, y los participantes fueron orientados a no utilizar ningún otro producto en los locales de la aplicación y evaluación a lo largo de los 28 días de estudio.

Antes de cada evaluación, todos los participantes permanecieron en sala climatizada a 24° C ($\pm 2^\circ$ C), con humedad relativa del aire (UR) en torno de 50% ($\pm 4\%$), por 15 minutos. El área de la piel evaluada fue demarcada con una regla, lo que sirvió de guía para que todas las evaluaciones fuesen realizadas en los mismos locales. En el primer día de tratamiento (D0) fue realizada la evaluación inicial de la piel y los participantes fueron instruidos sobre los procedimientos para aplicación de las formulaciones y la estandarización de los locales. A cada uno fueron dispensados dos potes conteniendo las informaciones de validez y aplicación, uno para el antebrazo izquierdo y otro para el antebrazo derecho. Todos los participantes utilizaron ambas formulaciones.

Después de 24 horas (D1) de la primera aplicación, los participantes fueron evaluados en cuanto a la tolerancia y la aparición de reacciones adversas. Si no hubo quejas o signos de irritación, el tratamiento continuaba hasta el D28, cuando las evaluaciones se realizaban de nuevo.

Los resultados analizados fueron irritación e hidratación de la piel, evaluados por medio de instrumentos de medida cuantitativa, evaluación clínica y evaluación subjetiva. Para la evaluación de la irritación fueron realizadas determinaciones cuantitativas de eritema y melanina con el Mexameter® MX18 (Courage and Khazaka Electronics Ltd, Koeln, Germany) y la medida del pH de la piel local con el Skin-pH-Meter pH 900® (Courage and Khazaka Electronics Ltd, Koeln, Germany); la evaluación clínica visual de la descamación macroscópica y la evaluación subjetiva fueron realizadas por medio de una encuesta al participante sobre la sensación de calor, ardor, prurito y dolor. La hidratación de la piel fue evaluada: por el tenor de agua retenido en el estrato córneo, con el equipamiento Corneometer® CM 825 (Courage & Khazaka, Koeln, Germany), y por la pérdida de agua transepidérmica, con el Tewameter® TM 210 (Courage and Khazaka Electronics Ltd, Koeln, Germany); por los parámetros clínicos de opacidad y aspereza; y evaluación subjetiva del participante sobre la sensación de hidratación.

Las evaluaciones cuantitativas fueron realizadas por una farmacéutica con experiencia en esos análisis. La evaluación clínica fue realizada por un enfermero y la evaluación subjetiva por el propio participante. Todos los resultados fueron anotados en un instrumento de recolección de datos, previamente sometido a tres jueces para la evaluación de contenido y apariencia.

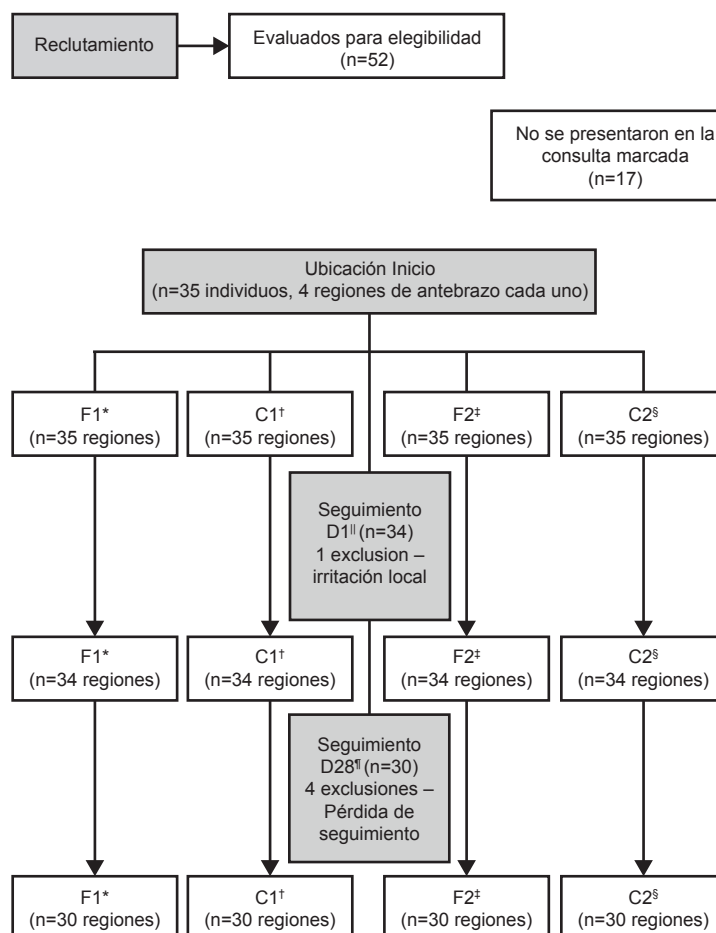
El enfermero y el farmacéutico que realizaron las evaluaciones, así como los participantes, no sabían qué formulación contenía las micropartículas de quitosano con manzanilla. Además, dado el olor característico y la consistencia de la Lanolina®, la formulación control (F2) presentaba el mismo aspecto que la prueba (F1).

Se realizó un análisis descriptivo de cada variable y se verificó la distribución de estas por la prueba de Kolmogorov-Smirnov; sólo después de este procedimiento se eligió la prueba estadística pertinente. Los análisis se realizaron con el programa SAS®, se adoptaron niveles de significancia (α) del 5% y poder del 80%. Para evaluar el antes y el después en cada lugar de aplicación, la prueba de elección fue el Wilcoxon. Para comparar las ubicaciones de aplicación de las formulaciones (F1 y F2) y los controles (C1 y C2) en cada momento, se utilizó la prueba Kruskal-Wallis.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto (EERP/USP), con el número 1.177.590 / 2015.

Resultados

Por su elegibilidad y reclutados por la investigadora principal 52 participantes fueron evaluados. De ellos, 17 no asistieron a la programación, siendo así asignados 35 participantes en el estudio. El estudio fue finalizado después de cuatro semanas, según el cronograma inicial de ejecución. Después del inicio, un participante tuvo el tratamiento suspendido por presentar irritación local. En la mayoría de los casos, la mayoría de las personas que sufren de esta enfermedad, En el momento de la evaluación del D1, el local se presentaba sin cambios y el participante no relató otras quejas. Por seguridad, este participante fue orientado a no utilizar más las formulaciones y fue discontinuado del estudio. Otros cuatro no fueron a la evaluación final (D28), no concluyendo el esquema propuesto. Sin embargo, se mantuvo contacto con estos participantes hasta 21 días después de la aplicación, cuando se confirmó la fecha de la evaluación final. Destacamos que hasta esa fecha, ninguno de esos cuatro participantes había manifestado cualquier reacción adversa al tratamiento; el flujo de participante está representado en la Figura 2.



*F1: Formulación con micropartículas; †C1: Sin formulación; ‡F2: Formulación sin micropartículas; §C2: Sin formulación; ‖D1: Primer día; ¶D28: Último día

Figura 2. Diagrama de flujo de los participantes e el estudio según las recomendaciones del CONSORT

La edad media de los participantes fue de 26,30 años (Desviación estándar 7,80; mínimo 19; máximo 59), Índice de Masa Corporal (IMC) medio de 23,20 (Desviación estándar 4,42; mínimo 16,1; máximo 32,1). Otras variables analizadas en la caracterización inicial de los participantes están presentadas en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización sociodemográfica y clínica de los participantes en el inicio de la investigación (n=35). Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2015

Variables	n (%)
Sexo	
Femenino	30 (85,7)
Masculino	5 (14,3)
Raza	
Blanca	29 (82,9)
Negra	1 (2,9)
Parda	3 (8,6)
Asiática	2 (5,7)
Antecedentes Personales	
Ningún	32 (91,4)
DM*	1 (2,9)
Otro	2 (5,7)
Etilismo	
No	5 (14,3)
Sí	0 (0,0)
Ex- alcohólico	1 (2,9)
Esporádico	29 (82,9)
Tabaquismo	
No	32 (91,4)
Sí	0 (0,0)
Ex- tabaquista	3 (8,6)
Esporádico	0 (0,0)

*DM: Diabetes Mellitus

Primeramente, fue realizada una evaluación buscando identificar posibles diferencias cuanto al eritema, melanina, pH, hidratación y pérdida transepidermica de agua entre los cuatro locales evaluados en el inicio (D0) y al final del tratamiento (D28). Esos datos están presentados en la Tabla 2.

Otra evaluación fue realizada comparando cada local antes (D0) y después del tratamiento (D28), con el objetivo de identificar si el uso de la formulación alteró de modo significativo los parámetros mencionados. Así, en la evaluación clínica de los parámetros de descamación y edema no se observó ninguna alteración después del primer día de aplicación o al final de las cuatro semanas. No hubo diferencia entre el promedio inicial y final para las variables eritema y melanina en ninguno de los lugares

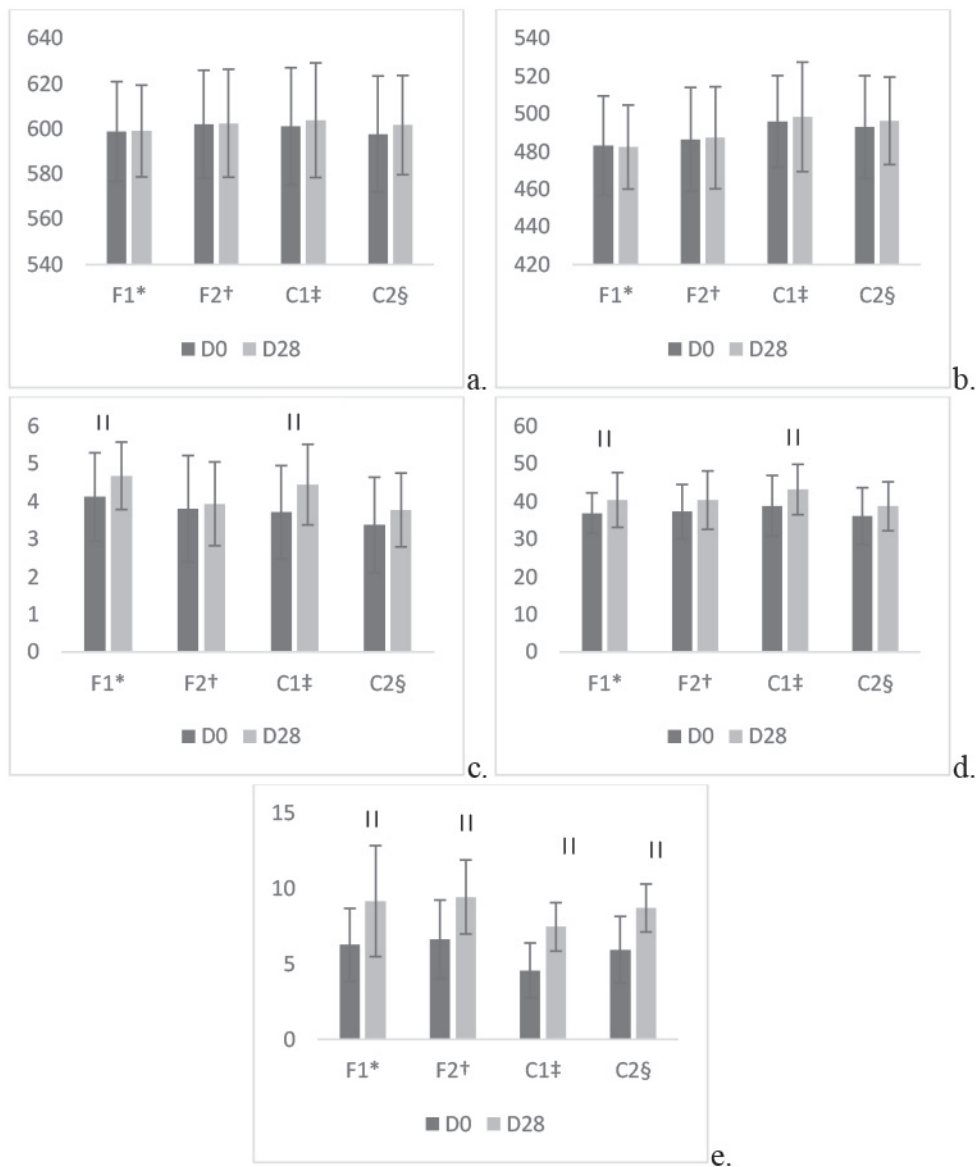
de aplicación, lo que confirma lo esperado. Este mismo análisis para los promedios de pH apuntó diferencia entre los valores iniciales y finales en el lugar de aplicación de la formulación con las micropartículas ($p=0,0492$) y en el lugar de evaluación del control derecho ($p=0,0303$) (Figura 3).

Tabla 2. Comparación de los promedios de eritema, melanina, pH, hidratación y pérdida transepidermica de agua entre los lugares evaluados al inicio (D0) y al final del tratamiento (D28) (n=30). Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2015

Variables	Inicio		Final	
	Media	p valor*	Media	p valor*
Eritema				
F1 [†]	598,9		599,1	
F2 [‡]	602,0	0,6464	602,5	0,8796
C1 [§]	601,1		603,8	
C2	597,8		601,7	
Melanina				
F1 [†]	483,1		482,4	
F2 [‡]	486,4	0,0037 [¶]	487,3	0,0053 [¶]
C1 [§]	496,0		498,4	
C2	492,9		496,3	
pH				
F1 [†]	4,1		4,6	
F2 [‡]	3,8	0,0819	3,9	0,0019 [¶]
C1 [§]	3,7		4,4	
C2	3,3		3,7	
Tenor de agua				
F1 [†]	36,8		40,3	
F2 [‡]	37,3	0,4837	40,3	0,1348
C1 [§]	38,8		43,1	
C2	36,0		38,6	
TEWL**				
F1 [†]	6,2		9,1	
F2 [‡]	6,6	0,0006 [¶]	9,4	0,0029 [¶]
C1 [§]	4,5		7,4	
C2	5,9		8,7	

*Test de Kruskal-Wallis; [†]F1: Formulación con micropartículas; [‡]F2: Formulación sin micropartículas; [§]C1: Sin formulación; ^{||}C2: Sin formulación; [¶]Valor de p menor que 0,05; **TEWL: Pérdida transepidermica de agua

Se observó un aumento en la media del coeficiente de hidratación en el lugar de aplicación de la formulación con las micropartículas (F1) ($p=0,0483$) y en el control derecho (C1) ($p=0,0413$). En cuanto a la función barrera de la piel, hubo un aumento en la media de la pérdida transepidermica de agua (TEWL) en los cuatro lugares evaluados (F1 - $p=0,0003$; F2 - $p=0,0004$; C1 - $p<0,0001$; C2 - $p<0,0001$), lo que indica una disminución en la función barrera (Figura 3).



*F1: Formulación con micropartículas; † F2: Formulación sin micropartículas; ‡ C1: Sin formulación; § C2: Sin formulación. || representa los valores de p menores que 0,05 (prueba Wilcoxon)

Figura 3. Distribución de los valores medios de eritema (a), melanina (b), pH (c), Hidratación (d) y TEWL (e) en los tiempos inicial (D0) y final (D28) para cada ubicación evaluada

La evaluación clínica de la irritación no encontró descamación en ningún participante en el período evaluado. En cuanto a los parámetros subjetivos de irritación (dolor, ardor, prurito y calor) sólo un participante (3,3%), al final de las cuatro semanas del estudio, relató sensación de dolor leve en el lugar de aplicación de la formulación con las micropartículas (F1) con rápido alivio después de algunos minutos de la aplicación.

En relación a la evaluación clínica de la hidratación de la piel (opacidad y aspereza), no se observó alteración en el D0 o en el D28. Los datos referentes a la evaluación del parámetro subjetivo de la hidratación apuntan que, en el lugar de aplicación de la formulación con las micropartículas, (F1) hubo mejoría en la sensación de hidratación referida por el 37,1% de los participantes

en el segundo día y en todos los participantes en el último día. En el antebrazo izquierdo, formulación sin las micropartículas (F2), hubo mejoría en la sensación de hidratación en 48,6% en el segundo día y en todos los participantes en el último día. El control fue evaluado con mejor hidratación por el 2,9% de los participantes en el segundo día y por el 96,7% en el último día.

Discusión

Sobre la edad, los participantes de este estudio presentaron promedio de 26,3 años (Desviación estándar 7,80, mínimo 19, máximo 59). La variabilidad en la edad de los participantes del estudio puede predecir la actuación del producto en diferentes etapas de envejecimiento de la piel. Esta variación en el grupo

de edad de los participantes fue observada en otros estudios que evaluaron seguridad y eficacia de nuevas formulaciones⁽³⁶⁻³⁸⁾.

Referente al sexo, 30 (85,7%) de los participantes fueron del sexo femenino (Tabla 1). Las características de la piel, como la cantidad de eritema, melanina, elasticidad, espesor, pérdida transepidermica de agua y pH varían en los diferentes sitios anatómicos entre hombres y mujeres y también en las diferentes edades⁽³⁹⁻⁴²⁾. Los autores apuntan sobre la importancia de considerar las variaciones en las propiedades biofísicas de la piel en diferentes edades, géneros y localizaciones anatómicas, pues una vez que estas diferencias tienen relación con la susceptibilidad individual para las enfermedades de piel, ellas deben ser consideradas en los estudios y en la elaboración de productos para la piel⁽⁴¹⁾.

Lo mismo ocurre con el IMC, pues esa variable influye en la calidad de la piel y de este modo, seleccionar una muestra con amplia variación es importante para comprender la actuación del producto de forma más amplia. En este estudio, el IMC también varió bastante, siendo el promedio 23,2 (Desviación estándar 4,42, mínimo 16,1, máximo 32,1).

La cuantificación del eritema permitió observar que la formulación en prueba no produjo una respuesta inflamatoria local, pues no hubo diferencia entre el promedio de eritema en el D0 y D28 ($p=0,8650$). El primer evento después del inicio de la respuesta inflamatoria es la vasodilatación con el aumento del flujo sanguíneo local, seguido del aumento de la permeabilidad vascular. Estos fenómenos son promovidos por mediadores químicos y se traduce clínicamente en la aparición del eritema⁽⁴³⁾.

La evaluación de la melanina mostró diferencia entre las medias de los locales evaluados tanto en el D0 ($p=0,0037$) como en el D28 ($p=0,0053$). Estos hallazgos demuestran que la cantidad de melanina no fue homogénea en los cuatro lugares evaluados en el D0 y en el D28. Los índices de melanina pueden presentar variaciones en las diferentes regiones del cuerpo⁽⁴¹⁾. Además de las cuestiones anatómicas, este hecho puede ser explicado por la diferencia en la exposición solar⁽⁴¹⁾, corroborando con lo evidenciado en este estudio. Los factores personales como edad, sexo, raza, lugar anatómico y propiedades de superficie cutánea, así como factores ambientales como condiciones de luz, temperatura, humedad y variaciones climáticas pueden influenciar la coloración de la piel^(41,44).

La función de la melanina es la protección del ADN de los queratinocitos contra la radiación⁽⁴⁵⁾. Se sabe que su concentración, su tipo y su ubicación representan importantes factores en la evaluación de la coloración

de la piel, así como en la evaluación de flujo sanguíneo, espesor, suavidad y degradación de las proteínas de la piel⁽⁴⁶⁾, lo que representa una importante medida en la evaluación de sus posibles cambios.

La evaluación de la cantidad de melanina mostró una disminución de la media de estos valores sólo en el lugar de aplicación de la formulación con las micropartículas (Figura 3), aunque el análisis no apunta a diferencia estadística ($p=0,8592$). Este hecho puede indicar un posible efecto fotoprotector de la formulación con las micropartículas, ya que esta reducción fue observada solamente en el lugar de aplicación de esa formulación (F1).

Un estudio que evaluó los efectos de una emulsión conteniendo tamarindo en la melanina, identificó una reducción en la cantidad de melanina en los locales de aplicación y atribuyó ese resultado a la presencia de compuestos fenólicos presentes en el extracto⁽⁴⁷⁾. Se sabe que la manzanilla contiene diversos compuestos fenólicos en su composición, hecho que sugiere la realización de estudios futuros para investigar mejor esa propiedad.

En la evaluación del pH, no hubo diferencia entre los locales en el D0 ($p=0,0819$). Sin embargo, en el D28 hubo una diferencia significativa para esos valores ($p=0,0019$). Además, el promedio de pH de la piel era similar en los cuatro lugares evaluados en el D0, pero en el D28 hubo una modificación entre los valores, sin alterar los valores fisiológicos. Como esta alteración fue verificada también en el control del mismo brazo, se puede inferir que ese aumento no está relacionado al uso de la formulación. Además, esta alteración no interfirió en los valores de normalidad del pH en la piel.

El pH es también una variable que presenta alteración en sus índices en las diferentes regiones corporales⁽⁴²⁾. En este estudio, se cree que la diferencia es el resultado de la aplicación de la formulación con la manzanilla, causando un aumento en su valor medio, a pesar de permanecer dentro de los límites fisiológicos.

En las evaluaciones subjetivas de ardor, prurito y calor, así como en la evaluación clínica de descamación, no se encontraron cambios significativos. Se sabe que los tres componentes utilizados están liberados por los órganos reguladores, estudiados en diversos tipos de investigaciones y utilizados para diversas finalidades, entre ellas los tratamientos y cuidados de la piel.

El extracto de la manzanilla fue evaluado en su toxicidad, presentando seguridad en las dosificaciones preconizadas para los seres humanos, sin presentar efectos citotóxicos, genotóxicos o mutagénicos⁽⁴⁸⁾. El uso del quitosano en nanocápsulas con alginato, para el tratamiento de condiciones infecciosas o inflamatorias de la piel, presentó actividad antibacteriana,

anti-inflamatoria y liberación controlada, sin causar irritación cutánea⁽⁴⁹⁾. Un estudio sobre la toxicidad de la lanolina y su efecto en la cicatrización de animales concluyó que no presenta efecto tóxico en monocitos, células importantes para la cicatrización⁽⁵⁰⁾.

En cuanto al participante descontinuado del estudio en el D1 por relato de reacción local, se atribuye el evento a una posible sensibilidad personal desconocida a los componentes de la formulación, ya que se trata de un caso aislado y con regresión espontánea de los signos. El participante que relató sensación de dolor dijo que esa presentó grado leve, con corta duración, siendo aliviada espontáneamente.

La evaluación de la función barrera de la piel demostró un aumento significativo en la media de la pérdida transepidérmica de agua en los cuatro lugares evaluados ($pF1=0,0003$, $pC1<0,0001$, $pF2=0,0004$ y $pC2<0,0001$), indicando su disminución (Figura 3). Las variaciones en la pérdida transepidérmica de agua se pueden atribuir al flujo sanguíneo, temperatura de la piel, contenido lipídico del estrato córneo y grado de formación de los corneócitos (41-42). El aumento en la pérdida transepidérmica de agua a través del estrato córneo, en el presente estudio, puede ser atribuido al período del año y al clima seco de la ciudad en la cual el estudio fue realizado. Los estudios manteniendo un tiempo de evaluación más prolongado pueden aclarar la posible influencia de estos aspectos.

Al comparar los resultados de los cuatro lugares evaluados (Tabla 3) se observa que no hubo diferencia para los valores medios de la hidratación, entre ellos en el D0 ($p=0,4837$) y en el D28 ($p=0,1348$). Para los valores medios de pérdida transepidérmica de agua, se observa una diferencia entre los grupos en el D0 ($p=0,0006$) y en el D28 ($p=0,0029$). Este dato demuestra no homogeneidad en la cantidad de pérdida transepidérmica de agua entre lugares evaluados al inicio y al final del estudio.

El análisis de la hidratación al final del estudio evidenció un aumento de la media de ese coeficiente en todos los lugares evaluados, pero sólo el lugar de aplicación de la formulación con las micropartículas (F1) ($p=0,0483$) y el control derecho (C1) ($p=0,0413$) presentaron una diferencia significativa (Figura 3).

Actualmente la prevención de lesiones de piel se realiza de acuerdo con el tipo de lesión. Productos de diversas marcas están disponibles para aplicación en la piel íntegra para la formación de una película protectora y, de este modo, la promoción de una protección contra los agresores físicos o químicos. Sin embargo, estos productos no presentan micropartículas de quitosano con manzanilla, lo que promueve un aumento de la estabilidad del extracto botánico encapsulado y también

la liberación lenta y controlada de sus activos, que puede ser un diferencial.

El estudio tuvo como posibles limitaciones a la no randomización de los lugares de aplicación y la no medición de la cantidad exacta del producto a ser aplicada.

Por lo tanto, se trata de un producto tecnológico que utiliza en su composición un principio activo con actividades biológicas comprobadas, con la ventaja de presentar una liberación controlada, agregada en una base de uso conocido y de fácil incorporación. Además, destacamos que estos resultados estimulan la continuidad del empleo de esa formulación en ensayos con animales para la evaluación de su acción en la cicatrización de lesiones y posteriormente estudios clínicos para evaluar su efecto en la prevención y también en el tratamiento de lesiones de piel como la radiodermatitis, lesiones periestoma y lesiones por presión, áreas de interés para la enfermería.

Conclusión

La hipótesis de que la formulación de lanolina, conteniendo micropartículas de *Chamomilla recutita* (L.) rauschert revestidas con quitosano, sería segura para la aplicación en la piel íntegra de voluntarios sanos fue confirmada. A pesar de un caso aislado de eritema, este hecho no fue confirmado en otros; hubo alteración en la melanina, atribuida como efecto protector de la formulación; no hubo descamación; un participante relató dolor, con regresión espontánea y breve; no proporcionó prurito o ardor en el período analizado.

Los resultados demostraron una mejora en la hidratación cutánea en el lugar de aplicación de la formulación con la manzanilla; la evaluación subjetiva de la sensación de hidratación por los voluntarios al final del período fue positiva en todos los lugares evaluados.

Referencias

1. Wheeler T. Our outermost boundary: the skin. *Nurs Residential Care*. 2012; 14(11):570-3. doi: <https://doi.org/10.12968/nrec.2012.14.11.570>
2. Mclafferty E, Hendry C, Alistair F. The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin. *Nurs Stand*. 2012 Sept; 27(3):35-42. doi: <http://dx.doi.org/10.7748/ns.27.3.35.s52>
3. Watkins J. Skin rashes, part 1: Skin structure and taking a dermatological history. *Practice Nurs*. 2013; 24(1):30-3. doi: <https://doi.org/10.12968/pnur.2013.24.1.30>
4. Nóbrega AT, Wagemaker TAL, Campos PMBG. Antioxidant activity of *Matricaria chamomilla* L. extract

- and clinical efficacy of cosmetic formulations containing this extract and its isolated compounds. *Biomed Biopharm Res.* [Internet]. 2013 [cited 2017 Aug 20]; 10(2):249-61. Available from: http://www.alies.pt/BBR%20Editions/Vol-10-2-2013/Article10_10n2.pdf
5. Avonto C, Rua D, Lasonkar PB, Chittiboyina AG, Khan IA. Identification of a compound isolated from German chamomile (*Matricaria chamomilla*) with dermal sensitization potential. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017; 318:16-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.01.009>
6. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 5 de 11 de dezembro de 2008. Determina a publicação da lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado [Internet]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, dez, 2008. [Acesso 13 jan 2018]. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/int0005_11_12_2008.html
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira [Internet]. Brasília: Anvisa; 2016. [Acesso 13 jan 2018]. 115p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/2909630/Memento+Fitoterapico/a80ec477-bb36-4ae0-b1d2-e2461217e06b>
8. Lins R, Vasconcelos FHP, Leite RB, Coelho-Soares RS, Barbosa DN. Clinical evaluation of mouthwash with extracts from aroeira (*Schinus terebinthifolius*) and chamomile (*Matricaria recutita* L.) on plaque and gingivitis. *Rev Bras Pl Med.* 2013; 15(1):112-20. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000100016>.
9. Tomic M, Popović V, Petrović S, Stepanović-Petrović R, Micov A, Pavlović-Drobac M, et al. Antihyperalgesic and Antiedematous Activities of Bisabolol-Oxides-Rich *Matricaria* Oil in a Rat Model of Inflammation. *Phytother Res.* 2014; 28(5):759-66. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5057>.
10. Braga FTMM, Santos AC, Bueno PC, Silveira RC, Santos CB, Bastos JK, et al. Use of *Chamomilla recutita* in the prevention and treatment of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a randomized, controlled, phase II clinical trial. *Cancer Nurs.* 2015; 38(4):322-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1097/NCC.000000000000194>.
11. Reis PED, Carvalho EC, Bueno PC, Bastos J.K. Clinical application of *Chamomilla recutita* in phlebitis: dose response curve study. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.* 2011; 19(1): 8telas. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-11692011000100002>.
12. Malheiros FBM, Garcia AC, Souza LMA, Silva CA. Cicatrizant effect of the fluid extract of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert in magistral semisolid formulations on cutaneous lesions in rats. *ConScientiae Saúde.* 2011; 10(3):425-32. doi: <http://dx.doi.org/10.5585/ConsSaude.v10i3.2541>.
13. Kazemian H, Ghafourian S, Sadeghifard N, Houshmandfar R, Badakhsh B, Taji A, et al. In vivo Antibacterial and Wound Healing Activities of Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*). *Infect Disord Drug Targets.* 2018; 18:41-5. doi: <https://doi.org/10.2174/1871526516666161230123133>
14. Miraj S, Alesaeidi S. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recutita* chamomile (chamomile). *Electron Physician.* 2016; 8(9):3024-31. doi: <http://dx.doi.org/10.19082/3024>
15. Srivastava J K, Gupta S. Extraction, characterization, stability and biological activity of flavonoids isolated from chamomile flowers. *Mol Cell Pharmacol.* [Internet]. 2009 [cited 2017 Aug 20]; 1(3):138. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2809371/>.
16. Coutinho MAS, Muzitano MF, Costa SS. Flavonoids: Potential Therapeutic Agents for the Inflammatory Process. *Rev Virtual Quim.* 2009; 1(3):241-56. doi: <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20090024>.
17. Bijak M, Saluka J, Tsirigotis-Maniecka M, Komorowska H, Wachowicz B, Zaczynsk E, et al. The influence of conjugates isolated from *Matricaria chamomilla* L. on platelets activity and cytotoxicity. *Int J Biol Macromol.* 2013; 61:218-29. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.046>.
18. Subiza JL, Hinojosa M, Garcia R, Jerez M, Valdivieso R, Subiza ES. Anaphylactic reaction after the ingestion of chamomile tea: A study of cross-reactivity with other composite pollens. *J Allergy Clin Immunol.* 1989; 84(3):353-8. doi: [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(89\)90420-X](https://doi.org/10.1016/0091-6749(89)90420-X).
19. Gilissen L, Huygens S, Goossens A. Allergic contact dermatitis caused by topical herbal remedies: importance of patch testing with the patients' own products. *Contact Dermatitis.* 2018; 78: 177-84. doi:10.1111/cod.12939.
20. Švehlíková V, Bennett RN, Mellon FA, Needs PW, Piacente S, Kroon PA, et al. Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-O-glucoside from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *Phytochemistry.* 2004; 65(16):2323-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.07.011>.
21. Pereira SV. Microstructured systems containing *Chamomilla recutita* L. extract for dermocosmetic applications. [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2015. Available from: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-12052015-114418/pt-br.php>
22. Hostetler GL, Riedl KM, Schwartz SJ. Effects of food formulation and thermal processing on flavones in celery and chamomile. *Food Chem.* 2013; 141(2):1-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.051>.

23. Rolim AEH, Carvalho FAA, Costa RCC, Rosa FP. Chitosan Scaffolds - Physico-Chemical and Biological Properties for Bone Repair. *Rev Virtual Quim.* 2018; 10(2):211-28. doi: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180018>
24. Pereira GG, Santos-Oliveira R, Albernaz MS, Canema D, Weismüller G, Barros EB, et al. Microparticles of Aloe vera/vitamin E/chitosan: Microscopic, a nuclear imaging and an in vivo test analysis for burn treatment. *Eur J Pharm Biopharm.* 2014; 86(2):292-300. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.10.011>.
25. Blažević F, Milekić T, Romić MD, Juretić M, Pepić, I, Filipović-Grčić J, et al. Nanoparticle-mediated interplay of chitosan and melatonin for improved wound epithelialisation. *Carbohydr Polym.* 2016; 146(1):445-54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.074>.
26. Jaiswal M, Koul V, Dinda AK. In vitro and in vivo investigational studies of a nanocomposite-hydrogel-based dressing with a silver-coated chitosan wafer for full-thickness skin wounds. *J Appl Polym Sci.* 2016; 133(21). doi: <http://dx.doi.org/10.1002/app.43472>.
27. Dragostin OM, Samal SK, Dash M, Lupascu F, Pânzariu A, Tuchilus C, et al. New antimicrobial chitosan derivatives for wound dressing applications. *Carbohydr Polym.* 2016; 5(141):28-40. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.078>.
28. Caetano GF, Frade MAC, Andrade TAM, Leite MN, Bueno CZ, Moraes AM, et al. Chitosan-alginate membranes accelerate wound healing. *J Biomed Mater Res.* 2015; 103B(5):1013-22. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.b.33277>.
29. Ribeiro MP, Morgado PI, Miguel SP, Coutinho P, Correia IJ. Dextran-based hydrogel containing chitosan microparticles loaded with growth factors to be used in wound healing. *Materials Sci Engineering.* 2013; C33:2958-66. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.03.025>.
30. Custódio CA, Cerqueira MT, Marques AP, Reis RL, Mano JF. Cell selective chitosan microparticles as injectable cell carriers for tissue regeneration. *Biomaterials.* 2015; 43:23-31. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.11.047>.
31. Sagiri SS, Behera B, Pal K, Basak P. Lanolin-based organogels as a matrix for topical drug delivery. *J Appl Polym Sci.* 2013; 128(6):3831-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/app.38590>.
32. Thorat SB, Banarjee SK, Gaikwad DD, Jadhav SL, Tharat RM. Clinical trial: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research [Internet].* 2010 [cited 2017 Dec 10]; 1(2):101-6. Available from: <http://global-research-online.com/volume1issue2/Article%20019.pdf>
33. Pereira SV, Reis RAS, Garbuio DC, Freitas LAP. Dynamic maceration of *Chamomilla recutita* (L.) Rauscher inflorescences: optimal conditions for flavonoids and antioxidant activity. *Rev Bras Farmacogn.* 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjpp.2017.11.006>
34. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 5ª ed. Parte I e II. Brasília, Brasil. 524p. Available from: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm.
35. Ministério da Saúde (BR). Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. [Acesso 18 fev 2018]. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapicos.pdf>.
36. Oliveira CA, Dario MF, Sarruf FD, Mariz IFA, Velasco MVR, Rosado C, et al. Safety and efficacy evaluation of gelatin-based nanoparticles associated with UV filters. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016; 140:531-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.11.031>.
37. Reis C, Antunes AF, Rijo P, Baptista M, Mota JP, Rodrigues LM. A novel topical association with zinc oxide, chamomile and aloe vera extracts - stability and safety studies. *Biomed Biopharm Res.* 2015; 12(2):251-64. doi: <http://dx.doi.org/10.19277/bbr.12.2.122>.
38. Costa A, Pires MC, Fabricio LHZ, Torloni LBO, Langen S, Botero EB. Multicenter clinical study to evaluate safety and clinical efficacy of a body moisturizer based on ceramides, omegas, glycerin, Imperata cylindrica, erythritol, and homarine. *Surg Cosmet Dermatol.* [Internet]. 2014 [cited 2017 Aug 20]; 6(1):32-8. Available from: <http://www.surgicalcosmetic.org.br/detalhe-artigo/309/Estudo-clinico-multicentrico-para-avaliacao-de-seguranca-e-eficacia-clinica-de-um-hidratante-corporal-a-base-de-ceramidas--omegas--glicerina--Imperata-cilindrica--erythritol-e-homarine>.
39. Nedelec B, Forget NJ, Hurtubise T, Cimino S, Muszka F, Legault A, et al. Skin characteristics: normative data for elasticity, erythema, melanin, and thickness at 16 different anatomical locations. *Skin Res Technol.* 2016; 22:263-75. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/srt.12256>.
40. Sandby-Moller J, Poulsen T, Wulf HC. Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits. *Acta Derm Venereol.* 2003; 83:410-3. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00015550310015419>.
41. Firooz A, Sadr B, Babakoohi S, Sarraf-Yazdy M, Fanian F, Kazerouni-Timsar A, et al. Variation of biophysical parameters of the skin with age, gender, and body region. *Scientific Wld J.* 2012; doi: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/386936>.
42. Marrakchi S, Maibach HI. Biophysical parameters of skin: map of human face, regional, and age-related

- differences. *Contact Dermatitis*. 2007; 57:28–34. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0536.2007.01138.x>.
43. Teller P, White TK. The Physiology of wound healing: injury through maturation. *Surg Clin N Am*. 2009; 89:599–610. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.suc.2009.03.006>.
44. Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhel KP, Takiwaki H, Serup J. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. *Contact Dermatitis*. 1996; 35:1-10. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02258.x>.
45. Elobeid AS, Eldin AK, Abdelhalim MAK, Haseeb AM. Pharmacological Properties of Melanin and its Function in Health. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017; 120:515-22. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/bcpt.12748>.
46. Matsunaka H, Yamamoto Y, Furukawa F. Non-invasive quantification of melanin in the stratum corneum: a novel indicator of skin lesions in pigmentation diseases. *Skin Res Technol*. 2017; 23(1):104-11. doi: 10.1111/srt.12309.
47. Waqas MK, Akhtar N, Bakhsh S, Caldeira EJ, Khan BA. Skin Lightening and Sebum Control Efficacy of a Cosmetic Emulsion Containing Extract of Tamarind Seeds on Asian Skin Type. *Lat Am J Pharm*. [Internet]. 2015 [cited 2017 Aug 20]; 34(3):570-5. Available from: http://www.academia.edu/30222560/_Skin_Lightening_and_Sebum_Control_Efficacy_of_a_Cosmetic_Emulsion_Containing_Extract_of_Tamarind_Seeds_on_Asian_Skin_Type.
48. Delarmelina JM, Batitucci CMCP, Gonçalves JLO. The cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of *Matricaria chamomilla* L. tincture in vivo. *Rev Cubana Plantas Med*. [Internet]. 2012 [cited 2017 Aug 20]; 17(2):149-59. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962012000200004&lng=es.
49. Friedman AJ, Phan J, Schairer DO, Champer J, Qin M, Pirouz A, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of chitosan–alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens. *J Invest Dermatol*. 2013; 133:1231-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2012.399>.
50. Martins EF, Pereira LM, Lima TM, Aguiar GR, Chen SC, Folador A, et al. Influence of Lanolin on Cicatrization. *Saúde Rev*. [Internet]. 2005 [cited 2017 Aug 20]; 7(16):19-25. Available from: <https://educacaofisicaufvjm.files.wordpress.com/2015/09/influencia-da-lanolina-na-cicatrizac3a7c3a30.pdf>.

Recibido: 16.02.2018

Aceptado: 26.08.2018

Autor correspondiente:
 Danielle Cristina Garbuio
 E-mail: danigarbuio@anhanguera.com / dgarbuio@yahoo.com.br
 <https://orcid.org/0000-0002-0516-5213>

Copyright © 2018 Revista Latino-Americana de Enfermagem

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons CC BY.

Esta licencia permite a otros distribuir, mezclar, ajustar y construir a partir de su obra, incluso con fines comerciales, siempre que le sea reconocida la autoría de la creación original. Esta es la licencia más servicial de las ofrecidas. Recomendada para una máxima difusión y utilización de los materiales sujetos a la licencia.