

Kosmeceutika a jejich vliv na pokožku

Bc. Linda Hanáková

Diplomová práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Linda Hanáková**
Osobní číslo: **T17365**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Kosmeceutika a jejich vliv na pokožku**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

Zpracujte literární rešerši na zadané téma. Věnujte se problematice aktivních látek ze skupiny kosmeceutik a soustředte se na kosmeceutika na bázi peptidů. Charakterizujte jejich složení, vlastnosti a mechanismus působení. Diskutujte legislativní aspekty používání těchto látek.

II. Praktická část

V praktické části práce připravte modelové vzorky krémů se zastoupením vybraných kosmeceutik na bázi peptidů. Stanovte jejich základní fyzikálně-chemické charakteristiky a pomocí bioinženýrských metod sledujte vliv připravených krémů na pokožku. Získané výsledky zpracujte a formulujte závěry práce.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] Barel, A. O., Paye M., Maibach, H. I. Handbook of cosmetic science and technology. 1. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001, ISBN 0-8247-0292-1

[2] Farris, P. K. Cosmeceuticals and Cosmetic Practice. John Wiley & Sons Ltd (2014) ISBN 978-1-118-38483-1

[3] Zhang, L; Falla, T. J. Cosmeceuticals and peptides. Clinics in Dermatology (2009) 27 (5), 485-494

[4] Lupo, M. P.; Cole, A. L. Cosmeceutical peptides. Dermatologic Therapy (2007) 20 (5), 343-349

[5] Dana, A.; Rotsztein, H. The Peptide Argireline—The Importance of Local Application on the Skin, in the Light of Current Knowledge. Letters in Drug Design & Discovery (2017), 14 (10), 1215-1220

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

2. ledna 2019

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2019

Ve Zlíně dne 12. března 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehotský, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: HANÁKOVÁ LINDA

Obor: 2901TO31/TDK

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 10.5.2019

Hanáková Linda

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlázení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užíje-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

¹⁸ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy a užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložil, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá působením kosmetického gelu obsahujícího kosmeceutikum Argireline® na pokožku v periorbitální oblasti a schopností této formulace redukovat vrásky. Studie byla provedena na 25 probandkách v průměrném věku 50 let, kterým byla měřena hloubka vrásek po 4 týdenní aplikaci (2 x denně) formulací s Argirelinem® o dvou rozdílných koncentracích, a to 12,5 a 5 %. Byl zjišťován jednak samotný účinek kosmeceutika na pokožku, ale také vliv rozdílných koncentrací na její výsledný stav. Studie byla provedena pomocí přístroje Skin Visiometer® SV 700, který pracuje na principu nepřímého fotometrického hodnocení otisku kůže, zhotoveném ve speciálním modrém silikonu. Z výsledků studie vyplynulo, že Argireline® má pozitivní efekt na zmenšení hloubky vrásek.

Klíčová slova: Kosmeceutika, Argireline (acetyl hexapeptid-3), hloubka vrásek, otisk kůže, Visiometer

ABSTRACT

The master thesis is dealing with the effect of the cosmetic gel containing cosmeceutical Argireline® on the skin in the periorbital area, and with the ability of this formulation to reduce wrinkles. The study was conducted on 25 volunteers at an average age of 50 years whose wrinkle depth was measured after 4 weeks of administration (twice daily) of Argireline® at two different concentrations of 12,5 and 5 %. The study was performed using the Skin Visiometer® SV 700, which operates on the principle of indirect photometric evaluation of the skin replica in a special blue silicone. The results of the study showed that Argireline® has a positive effect on reduction of wrinkle depth.

Keywords: Cosmeceuticals, Argireline (acetyl hexapeptide-3), wrinkle depth, skin replica, Visiometer

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda poděkovala doc. Věře Kašpárkové, CSc., která mi poskytovala cenné rady, materiály a připomínky. Za její trpělivost a čas, který mi věnovala při vypracování diplomové práce. Poděkování patří také všem probandkám, které se účastnily studie, bez nich by tato práce nemohla vzniknout. Mé velké poděkování patří rodině a přátelům za podporu během studia a při sepisování této práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 KOSMECEUTIKA	12
1.1 ÚČINNOST A BEZPEČNOST	12
1.2 VĚDECKÝ VÝZKUM A TESTOVÁNÍ KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	12
1.3 FAKTORY ÚČINNOSTI KOSMECEUTIK	13
2 LEGISLATIVNÍ ASPEKTY POUŽÍVÁNÍ KOSMECEUTIK	15
3 AKTIVNÍ LÁTKY POUŽÍVANÉ JAKO KOSMECEUTIKA.....	17
3.1 VITAMINY	17
3.1.1 Vitamin A.....	17
3.1.2 Vitamin B ₃	18
3.1.3 Vitamin C	19
3.1.4 Vitamin E	20
3.2 PANTHENOL	20
3.3 HYDROXYKyseliny.....	21
3.4 CUKERNÉ AMINY	22
3.5 CERAMIDY	22
3.6 KOVY	23
4 PEPTIDY	24
4.1 HISTORIE.....	24
4.2 PEPTIDY	24
4.3 PŮSOBENÍ PEPTIDŮ JAKO KOSMECEUTIK.....	24
4.4 PEPTIDY POUŽÍVANÉ JAKO KOSMECEUTIKA.....	25
4.4.1 Signální peptidy	26
4.4.2 Nosné peptidy.....	28
4.4.3 Peptidy jako inhibitory neurotransmiterů.....	29
4.4.4 Peptidy inhibující enzymy.....	30
4.4.5 Peptidy odvozené od strukturních proteinů.....	31
5 ARGIRELINE	32
5.1 SLOŽENÍ	32
5.2 FUNKCE, VLASTNOSTI	32
6 CÍL PRÁCE	34
II PRAKTICKÁ ČÁST	35
7 MATERIÁLY A METODIKA.....	36

7.1	MATERIÁLY	36
7.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	36
7.3	PŘÍPRAVA MODELOVÝCH FORMULACÍ GELŮ S OBSAHEM ARGIRELINU	37
7.4	METODIKA STANOVENÍ ÚČINNOSTI FORMULACÍ PROTI VRÁSKÁM	38
7.4.1	Princip měření	38
7.4.2	Počet a výběr probandů	40
7.4.3	Organizace měření – doba používání gelu	40
7.4.4	Úprava pleti před testem	41
7.4.5	Příprava odlitku (repliky).....	41
7.4.5.1	Postup práce	42
7.4.6	Vyhodnocení měření	43
7.4.7	Další možnosti interpretace výsledků	46
7.4.8	Statistické zpracování dat.....	46
8	VYHODNOCENÍ A DISKUSE VÝSLEDKŮ	48
8.1	PARAMETRY DRSNOSTI.....	48
8.1.1	Srovnání působení Argirelinu ve věkových skupinách.....	53
8.1.2	Srovnání metod vyhodnocení.....	55
8.1.3	Srovnání s publikovanými studiemi.....	56
8.2	VYTVOŘENÝ OBRAZ Z KOŽNÍ REPLIKY.....	58
8.3	RIZIKOVÉ FAKTORY SBĚRU DAT	62
8.4	DOTAZNÍKOVÉ ŠETŘENÍ.....	63
	ZÁVĚR	69
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	71
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	80
	SEZNAM OBRÁZKŮ	83
	SEZNAM TABULEK.....	85
	SEZNAM PŘÍLOH.....	87

ÚVOD

Stárnutí je základní biologický proces probíhající u všech živých tvorů, kterému není možné zabránit. Molekulární, buněčné a morfologické změny spojené s epidermálním stárnutím mají přímý vliv na fyziologické funkce pokožky, zejména na její přirozenou ochrannou bariéru. Stárnutí kůže je důsledkem poškození, která se hromadí v průběhu celého života, a jsou způsobena jak vnitřními faktory (fyziologické vlivy a genetická predispozice), tak faktory vnějšími (zejména vliv slunečního záření, ale také obecné faktory životního stylu). Na pokožce se působením těchto vlivů postupně objevují negativní jevy, jako jsou suchost, svědění, pigmentace, křehkost, změny propustnosti, podráždění pokožky s výskytem zarudnutí, dochází k zvýšené tvorbě a prohloubení vrásek. Kromě důsledků souvisejících se zdravím, mohou epidermální změny vést k významným změnám vzhledu, což představuje estetický a psychosociální dopad.

Vývoj kosmetiky v oblasti potlačení znaků stárnutí pokožky poukazuje na potřebu nových terapeutických alternativ k prevenci stárnutí kůže. Jsou jimi různé formy působení účinných složek nebo sloučenin, které jsou schopné pomoci obnovit věkem postižené fyziologické funkce v míře, která se pokud možno blíží ideálnímu stavu. Správné ošetření pokožky má také významné estetické důsledky. Hlavním cílem moderní kosmetologie je tedy vytvořit funkční kombinace účinných látek v kosmetických a dermatologických aplikacích, u kterých je potřeba brát ohled na jejich vysokou účinnost a to tak, aby nedošlo k poškození funkce a vzhledu pokožky.

Dnešní sofistikované kosmetické výrobky proto používají vysoce účinné aktivní složky, které výrazně zlepšují vzhled i funkčnost pokožky. V důsledku těchto nových požadavků na kosmetické výrobky se testování jejich účinnosti stalo nepostradatelným prostředkem vývoje. Jeden ze způsobů zkoumání nerovností na povrchu pokožky je odvozen z profilometrických metod používaných ke klasifikaci kvality kovových dílů v kovoprůmyslu. Pro tyto měřicí techniky je společná skutečnost, že měření nelze provádět přímo, ale že je třeba vytvořit repliku/otisk (silikonová replika pokožky), protože pokožka je živý orgán a její dynamika (puls, svalové kontrakce a dýchání) by mohla ovlivňovat měření.

Aktivity, které vedou ke změně obličejových linií, zmenšení vrásek, hladší textuře pleti, snížení zarudnutí a zbarvení pokožky jsou klíčovými cílovými body ke zjišťování účinnosti aktivních látek v kosmetice, které mě vedly k vypracování této studie v rámci diplomové práce, a které jsou prospěšné i pro moji kosmetickou praxi.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOSMECEUTIKA

Do kategorie kosmeceutik patří produkty kosmetického průmyslu, jejichž cílem je zlepšení vzhledu stárnoucí pleti. Tyto produkty nejsou testovány a schváleny jako léčiva, ale pro potřeby spotřebitelského trhu je využíváno teoretických studií *in vitro*. Výrobce potřebuje, aby účinná látka byla doručena k cíli ve stabilní formě, musí být schopna mít požadovaný biologický účinek *in vivo*, ale nesmí spadat do kategorie léčiv, které ovlivňují buněčné funkce pokožky. Přídavek kosmeceutik do kosmetických formulací může urychlit viditelné výsledky kosmetické péče, zvýšenou produkcí kolagenu dojde k relaxaci mimických vrásek, zlepši se hydratace a bariérové funkce pokožky, kombinací těchto benefitů mohou kosmeceutika významně působit pro zlepšení pocitu a vzhledu pokožky [1].

1.1 Účinnost a bezpečnost

Spotřebitelé hledají produkty, které jsou zejména účinné, ale také bezpečné. Preferují výrobky, které jsou bez přidané syntetické vůně, hypoalergenní, bez parabenů, s přídomkem přírodní a bio. Chtějí produkty, které nejsou testovány na zvířatech a upřednostňují ty, u kterých proběhlo klinické testování na člověku.

Někteří spotřebitelé se s obavou o bezpečnost kosmetických prostředků zabývají otázkami týkajícími se nanočástic, potencionálních senzibilizátorů a údajných karcinogenů, hledají proto jiné alternativy, kterými se jeví přírodní a organické varianty kosmetických prostředků. Příklady přírodních ingrediencí zahrnují například aloe-vera, vit. C, sóju, kopr, ovesné vločky a mnohé další. Neexistují však žádné vědecké důkazy, které by potvrdily, že organická péče o pleť je bezpečnější, nebo výhodnější v porovnání s jinými běžně používanými produkty.

Využitím moderních systémů jako je například mikroenkapsulace nebo solubilizační techniky, je optimalizována účinnost dané látky. Příkladem mohou být liposomy, cyklodextriny, lipidové nanočástice či mikro/nanoemulze [1].

1.2 Vědecký výzkum a testování kosmetických přípravků

Mnoho výrobců kosmetiky má rozsáhlé výzkumné programy věnované identifikaci, testování a výběru účinných složek, které přinášejí široké spektrum benefitů pokožce. Pečlivý výběr účinných látek je rozhodující pro celkový stav výrobku. Nejen, že musí být stabilní po stanovenou dobu použitelnosti, ale po aplikaci na kůži musí být aktivní látky uvolněny

ze základu a podle potřeby buď zůstávají na povrchu, neb pronikají do kůže, v závislosti na jejich funkci.

Testování lidských dobrovolníků se provádí k následnému posouzení vlivu kosmetického výrobku na kůži, její toleranci vzhledem k testovanému produktu po jedné aplikaci a po opakovaných aplikacích. Standardní protokol je prováděn tak, že produkt je aplikován na okluzivní látku, nebo semi-okluzivní náplast, která se pak obvykle aplikuje na záda. Po stanoveném čase se náplast odstraní, místo pokožky je klinicky klasifikováno, hodnotí se objektivní podráždění (erytém, papule, pustule, atd.) za účelem vyhodnocení dalších ukazatelů přijatelnosti výrobku pro obecnou populaci.

Komplexní proces rozvoje kosmeceutik vede k vytvoření bezpečného, efektivního produktu, který přináší požadované výhody. Konečný produkt je vyvrcholením vědeckého výzkumu, produktem optimalizace s rozsáhlou stabilitou, bezpečností, provedeným klinickým testováním, spotřebitelskými testy kvality, právním/regulačním hodnocením a marketingovým zdůvodněním [1].

1.3 Faktory účinnosti kosmeceutik

Penetrace aktivních složek do pokožky je klíčovým faktorem pro účinnost kosmeceutik. Zatímco některé látky patří primárně do vrstvy *cornea*, ostatní musí dosáhnout *epidermis* nebo *dermis*. Poškození ochranné bariéry pokožky je nejlevnější a nejjednodušší metoda k dosažení zvýšené penetrace. Toho lze dosáhnout podporou ztráty korneocytů, prostřednictvím fyzické nebo chemické degradace interkorneocytové vazby, v oblasti kosmetických postupů prováděné formou peelingu, dermabraze aj. Obecně platí, že permeační schopnost závisí na různých faktorech, např. na fyzikálně-chemických vlastnostech látek, časovém působení, integritě a tloušťce pokožky, kožním metabolismu, místě, oblasti a době aplikace [2].

Novější způsoby dodávání aktivních látek do nižších vrstev zahrnují např. liposomy, které jsou založeny na přirozené struktuře buněčné membrány. Primárně jsou tvořeny z fosfolipidů, ale mohou být také složeny z povrchově aktivních látek, jako je například diolelylfosfatidylethanolamin. Liposom je extrémně všestranná struktura, může obsahovat v jádru vodu, jiné látky, nebo zůstat volný. Nanoliposomy mohou být speciálně navrženy tak, aby uvolňovaly svůj vnitřní obsah za určitých podmínek (pH, teplota ve *stratum corneum*), jsou ale poměrně nestabilní, v mnoha situacích je tak pravděpodobné, že mají vlastnosti tradičních liposomů. Nanoemulze (20 – 100 nm) nabízejí schopnost dodávat vysoce hydrofilní nebo lipofilní látky do pokožky. V praxi jsou známé kosmetické nanoemulze ubichinonu (koenzym Q10), či kyseliny hyaluronové. Nosné peptidy mohou zvýšit a urychlit proces

propustnosti [3], lokální použití peptidu je potenciaálně účinné, jejich dodávky přes kůži však mohou být diskutabilní, díky iontové povaze těchto materiálů. Ke zlepšení propustnosti těchto látek přes pokožku vede použití derivátů mastných kyselin, způsobující zvýšení lipofilních vlastností peptidů [4]. Aplikace bioaktivních peptidů v kosmetickém průmyslu je velmi slibná vzhledem k jejich širokému spektru aktivit, využití a účinků.

Dalším mechanismem pro zvýšení penetrace je použití fyzikálních zařízení, která poškozují SC (lasery, iontoforézy, sonoforézy). Tato zařízení mohou měnit různé atributy SC, jako je struktura, nebo elektrická vodivost. Všechny tyto techniky se snaží překonat ochranné funkce SC, tedy překonat ochrannou kožní bariéru a prostoupit do nižších vrstev pokožky. V současné kosmetické praxi se významně uplatňuje právě spojení fyzikálních zařízení a kosmeceutik.

Široká škála produktů péče o pokožku a jejich použití se staly tak složité, že spotřebitelé, kosmetičtí pracovníci, ale i dermatologové často tápou. Je obtížné porovnávat a kvantifikovat míru účinků mezi různými materiály, protože existuje mnoho proměnných: měření jednotlivých účinných látek, různé metody s odlišnou citlivostí a typy formulací, které mohou mít vliv na dodávky materiálu do kůže. Obecně ale můžeme říci, že i když účinky mohou být malé, přesto jsou významné a mohou zlepšit pocit a vzhled pokožky [5].

2 LEGISLATIVNÍ ASPEKTY POUŽÍVÁNÍ KOSMECEUTIK

Termín „cosmeceutical“ byl vytvořen Albertem Kligmanem na národním vědeckém setkání společnosti kosmetických chemiků (the Society of Cosmetic Chemists) v roce 1984, s odkazem na lokálně aplikované přípravky, které jsou schopné změnit stav pokožky, které nejsou považovány za léky ani kosmetiku, a které jsou aplikovány na kůži [5].

Termín kosmeceutika se již běžně používá v odborných časopisech, internetových příspěvcích a dokonce je definován ve slovníku. Kosmeceutika jsou novým hybridním typem produktů péče o pleť, nacházejí se na pomezí mezi kosmetikou a léčivý. Tento termín však není legislativně platný, takže neexistují žádná konkrétní kritéria stanovená pro produkty, které mají být zařazeny do této kategorie. Kosmeceutika jsou definována jako kosmetické přípravky s bioaktivními složkami, u nichž se předpokládá, že mají zdravotní výhody. Neexistují pro ně žádné právní normy, které by dokazovaly, že tyto produkty splňují dané požadavky [6].

Termín kosmeceutika dnes používáme v široké škále produktů, od opalovacích krémů až po preskripční retinoidy. Ve skutečnosti mohou dokonce být jednoduché zvlhčovače nazývány kosmeceutiky, pro svoje příznivé fyziologické účinky na kůži. Ve většině případů se však používá tento termín pro produkty obsahující účinné složky, které dodávají pokožce další výhody.

Dr. Albert Kligman měl jasnou vizi tří konkrétních kritérií, která by měla být stěžejní pro zhodnocení navrhovaného přínosného účinku produktu. Týká se výrobků péče o pleť, které jsou směsicí kosmetiky a léčiv, s dopadem na strukturu kůže a/nebo kožní funkce. Tři základní kritéria pro prokázání účinnosti kosmetického přípravku dle Dr. Kligmana jsou: 1) účinná látka musí dostatečně proniknout do *stratum corneum* (SC) k zamýšlenému cíli v dostatečné koncentraci, v časovém rámci a v souladu s mechanismem působení sloučeniny; 2) složka by měla mít známý specifický biochemický mechanismus účinku v cíli (kůže, buňka, nebo tkáň) a 3) musí být k dispozici statisticky významné údaje z publikovaných, recenzovaných dvojité zaslepených a placebem kontrolovaných klinických studií, které jsou dostatečné k potvrzení všech nároků na produkt. První kritérium jednoduše odráží známé fakty o SC, které slouží jako účinný bariérový mechanismus pro pokožku, zabraňující snadnému pronikání nežádoucím látkám. Tímto je představena možnost přepravy složek přes bariéru v biologicky efektivním množství. Druhé kritérium řeší potřebu prokázat známý mechanismus účinku, který umožňuje fyziologický účinek (aktivace/inhibice genové exprese, enzymová aktivita, regulace buněčného cyklu, atd.), existuje mnoho oblíbených složek, které

nemají zcela objasněný mechanismus účinku. Za třetí, klinické zkoušky musí generovat re-produkovatelná data, která jsou statisticky významná jak u velikosti vzorku, tak i při pozorovaném účinku [1].

Příchod kosmeceutik představuje jednu z nejdůležitějších inovací v topické péči o pleť. Tyto produkty nacházející se mezi kosmetikou a léčivý, poskytují léčebné výhody nad a za hranicemi jednoduché kosmetiky a jsou proto vyhledávány spotřebiteli. Obecně se odkazují na výrobky péče o pleť, které obsahují aktivní složky, které jsou prospěšné pro zlepšení vzhledu kůže a na podporu zdraví pokožky. Jsou poměrně snadno dostupné, což představuje významný bonus pro jeden z nejrychleji rostoucích segmentů na trhu s produkty osobní péče. Spotřebitelé vyhledávají kosmetické přípravky ke zmírnění projevů stárnutí pokožky a nesčetných kožních nedostatků jako jsou akné, melasma, rosacea, hyperpigmentace, ztráta vlasů a strie. Vzhledem k poptávce není překvapením, že se kosmetické a farmaceutické společnosti zaměřují na růst kosmetického trhu, většina silně investuje do rozvoje kosmetického průmyslu. Mnoho farmaceutických společností se připojuje k základnímu vědeckému výzkumu s cílem zlepšení vzhledu a zdraví kůže. Vytvářejí inovativní systémy umožňující efektivnější a cílenější poskytování aktiv na kůži [1, 5].

Společnosti, které vyvíjejí a uvádějí na trh kosmeceutika se přiklánějí k tomuto označení, protože pro kosmeceutika je vyžadován méně důsledný proces předběžného schvalování v porovnání s léčivý, a pro spotřebitele je ukazatelem přítomnosti prokazatelně aktivních složek v produktu. Tato klasifikace navíc umožňuje farmaceutickým společnostem vývoj a testování kosmetických prostředků s mnohem nižšími náklady než u léčiv, produkt se tak dostane rychleji a levněji ke spotřebiteli. Zmíněné rozhraní mezi medicínou a masovým trhem je jedinečné pro tuto kategorii výrobků.

3 AKTIVNÍ LÁTKY POUŽÍVANÉ JAKO KOSMECEUTIKA

V současné době můžeme do kategorie kosmeceutik zahrnout poměrně velké množství látek, ale pouze u malého počtu z nich jsou k dispozici klinické údaje, které podporují deklarovaný účinek na kůži vedoucí ke zlepšení jejího vzhledu. Následující část práce poskytuje stručný přehled vybraných látek, které lze mezi kosmeceutika zařadit.

3.1 Vitaminy

Vitaminy jsou nízkomolekulární látky nezbytné pro správné fungování živých organismů. V lidském organismu mají funkci katalyzátorů biochemických reakcí, podílejí se na metabolismu bílkovin, tuků a cukrů. Vitaminy jsou nezbytné pro udržení mnohých tělesných funkcí a jsou schopny posilovat a udržovat imunitní reakce [7]. Lze je rozdělit na dvě základní skupiny, a to na vitaminy rozpustné v tucích a vitaminy rozpustné ve vodě. Také v kosmetické péči mohou působit jako účinné a efektivní látky, ale zároveň mohou mít i účinky pro kůži dráždivé či exfoliační.

3.1.1 Vitamin A

Kosmeticky se využívá několik forem vitamínu A, zejména retinol, retinylestery (acetát, propionát, palmitát estery retinolu). Prostřednictvím endogenních enzymatických reakcí jsou v podmínkách *in vivo* převedeny na kyselinu *trans*-retinovou, funkční formu vitamínu A v pokožce. Retinoidy mají vedle stimulačních, také účinky inhibiční.

Na základě *in vitro* experimentů bylo zjištěno, že interakce *trans*-retinové kyseliny s proteiny jaderných receptorů vedou k interakci se specifickými sekvencemi DNA ovlivňujícími transkripci, což má za následek buď zvýšení, nebo snížení exprese specifických proteinů/enzymů [8]. Mezi změny genové exprese vyvolané retinoidy, které jsou relevantní pro anti-aging účinky řadíme ty, které vedou k pevnější pokožce, přispívají ke zjemnění vzhledu jemných vrásek a linek, což jsou například zvýšená epidermální proliferace a diferenciací (zvýšení tloušťky *epidermis*), zvýšená produkce základní epidermální substance, která váže vodu, čímž se zvyšuje epidermální hydratace a tloušťka pokožky, a zvýšenou produkci extracelulárních složek dermální matrix, jako je kolagen (nárůst tloušťky *dermis*) [1, 9].

Obecně platí, že retinoidy jsou velmi silné látky, takže pro získání významných účinků jsou obvykle dostatečné koncentrace menší než 1 %. Ve dvojité zaslepené, placebem kontrolované studii, trvající 12 týdnů, byly retinol a retinyl propionát významně účinné při snižování

výskytu obličejových vrásek a hyperpigmenací dokonce i v nízkých dávkách. Práce s retinoidy představuje dva podstatné problémy, jedním z nich je tendence vyvolat podráždění pokožky, což může ovlivnit výběr retinoidu. Retinol je pokožkou lépe tolerován, než kyselina *trans* retinová [9], retinaldehyd má dráždivost podobnou retinolu [10], estery retinolu jsou lépe snášeny než retinol [11]. Podráždění může být také do určité míry sníženo, pokud jsou ve formulacích použity další složky, jako jsou protizánětlivá činidla. Problémem je nestabilita retinoidů, a to zejména v přítomnosti světla a kyslíku.

V kosmetickém průmyslu se používají jako součást rtěnek, přípravků na opalování, pleťových hydratačních a ošetřujících přípravků, podkladových a hydratačních krémů, přípravků pro zralou pleť, make-upy s ochranným faktorem, kondicionéry, lesky na rty a korektory.

3.1.2 Vitamin B₃

Primární formy vitamínu B₃ používané v produktech péče o pleť jsou niacinamid (nikotinamid), kyselina nikotinová, nikotinát a jeho estery, jako je tokoferol-nikotinát, myristoyl-nikotinát a benzyl nikotinát.

Vitamin B₃ patří mezi základní vitaminy, je prekurzorem endogenních enzymatických kofaktorů, konkrétně nikotinamidu adenin dinukleotidu (NAD), jeho fosforylovaných derivátů NAD(P) a jejich redukováných forem NAD(H) a NAD(PH), které mají antioxidační vlastnosti. Tyto kofaktory se účastní řady enzymatických reakcí a mohou tak potenciálně ovlivnit řadu kožních procesů [12, 13].

V literatuře bylo popsáno několik mechanismů účinku niacinamidu, které vycházejí především z *in vitro* experimentů. Nikotinová kyselina a její estery jsou také prekurzory NAD(P), a tak se předpokládá, že poskytují stejné účinky na kůži jako niacinamid [14].

Několik dvojité zaslepených, placebem kontrolovaných studií dokumentovalo, že lokální aplikace niacinamidu vedla k výraznému zlepšení barvy pleti, včetně snížení výskytu pigmentových skvrn (hyperpigmentací) a červených skvrn. Snížení výskytu červených skvrn může souviset se zlepšením stavu kožní bariéry, snížením citlivosti kůže a schopností reagovat na změny životního prostředí, např. na sluneční záření. K dosažení požadovaných účinků byly použity poměrně vysoké dávky (2 – 5 %) vitamínu B₃. Vzhledem k tomu, že kůže má velmi vysokou odolnost vůči niacinamidu i při dlouhodobém užití, je aplikace vysoké dávky přijatelná. Některé klinické údaje rovněž prokázaly podobně široké spektrum účinků u myristoyl-nikotinátu, pokud byl lokálně použit v koncentraci 1 – 5 % [14, 15].

3.1.3 Vitamin C

Existuje řada forem tohoto vitamínu, z nichž některé se běžně používají. Jsou to např. kyselina askorbová, askorbyl-fosfát (hořčík nebo sodná sůl), askorbylpalmitát a askorbyl glukosid.

Vitamin C se používá jako prostředek pro zesvětlení pokožky, působí jako inhibitor tyrozinázy s antioxidační aktivitou. Byla také popsána jeho schopnost snižovat pooperační erytém spojený s laserovým zákrokem a působí tedy jako protizánětlivé činidlo [16]. Kyselina askorbová navíc slouží jako základní kofaktor enzymů lysyl hydroxylázy a prolyl hydroxylázy, které jsou potřebné pro posttranslační zpracování a biosyntézu kolagenu typu I a III [14]. Kyselina askorbová má tedy potenciál zvýšit produkci kolagenu a redukovat tím hloubku vrásek.

V několika kosmetických studiích byly popsány účinky askorbátu v prostředcích proti stárnutí pokožky. Topické dávky se pohybovaly v rozmezí od 3 do 17 % [14]. Týdenní ošetření lidské pokožky 3% kyselinou askorbovou mělo za následek významné snížení oxidace indukované ultrafialovým světelným zářením (UVA), přičemž 3% askorbyl fosforečnan vykazoval ve snížení oxidace horší výsledky [17]. Ve dvojité zaslepené, placebem kontrolované dvanácti týdenní studii, kdy byla lokálně aplikována 3% kyselina askorbová, došlo k redukcí obličejových vrásek bez podráždění pokožky [17]. Další studie s vyššími dávkami 5 až 17 % aplikovanými vždy po dobu 12 týdnů až 6 měsíců dokumentovaly celkové snížení stárnutí pokožky obličeje indukovaného UV zářením, zlepšení její struktury a zlepšení stavu kolagenu a elastinu v pokožce (posouzení z histologické biopsie) [14].

Primárním úkolem derivátů vitamínu C je zajištění stability vlastní kyseliny. To souvisí s její citlivostí na přítomnost kyslíku, kdy v jeho přítomnosti může dojít ke ztrátě téměř poloviny kyseliny askorbové za měsíc. To je pak doprovázeno rychlým žluknutím produktu, což má negativní dopad na spotřebitele. Ke stabilizaci kyseliny askorbové lze přistoupit s různou strategií, jako je třeba vyloučení kyslíku během výrobního procesu a procesu balení, zapouzdření, snížení pH, minimalizace obsahu vody a začlenění dalších antioxidantů. Přes všechny tyto postupy zůstává stabilita askorbátu výzvou, protože některé z těchto přístupů, jako je např. velmi nízké pH může vést k nežádoucím účinkům na kůži [14].

Skupinou derivátů kyseliny askorbové jsou askorbyl estery fosfátové soli (Mg a Na). Jejich stabilita je podstatně lepší než u kyseliny askorbové, avšak výsledný vysoký obsah soli v produktu může dramaticky ovlivnit účinnost konvenčních zahušťovadel používaných pro kosmetické formulace (karbomery, polyakrylamidové polymery), což následně vyžaduje

zvýšené použití zahušťovacích přísad. Deriváty, které nejsou na bázi solí, jako je například askorbyl glukosid, mají lepší stabilitu. Jejich nevýhodou však je, že jsou podstatně dražší než kyselina askorbová. Dalším problémem je nízká penetrace kyseliny askorbové pokožkou, jelikož z topické dávky vstupuje do kůže méně než 1 % [14].

3.1.4 Vitamin E

Kromě běžně používaných forem vitamínu E, zejména tokoferolu a tokoferol acetátu se v kosmetické praxi používá několik jeho dalších esterů, např. sukcinát, nikotinát, linoleát a fosfát. Přírodní tokoferol má několik izomerů (alfa, beta, gama a delta), které se odlišují postranními řetězci a účinností. Nejvíce účinný je syntetický alfa-tokoferol [14].

Vitamin E patří mezi látky, které velmi snadno reagují s kyslíkem a jeho nejvýznamnějším účinkem je působení jako antioxidant. Tokoferoly mohou díky rozpustnosti v tucích pronikat buněčným povrchem, stávají se součástí buněčné membrány, kterou chrání před působením volných radikálů. Předpokládá se, že ke stárnutí přispívají volné radikály, antioxidanty tudíž poskytují ochranu před jejich působením a pomáhají redukovat poškození způsobené např. toxickými chemikáliemi a škodlivinami, které jsou příčinou mnoha kožních problémů. Pozitivní vliv tohoto vitamínu se projevuje zejména při poškození způsobeném UV zářením, jako je spálení sluncem, stárnutí pokožky vlivem světla a hyperpigmentace.

V laboratorních modelových systémech byly prokázány antioxidační účinky vitamínu E, spolu s jeho pozitivními účinky na lidskou pokožku, zejména při ochraně proti UV záření [18, 19]. Topické užití vitamínu E je efektivní při redukci UV-indukovaného kožního zarudnutí; ve 2% koncentraci tento vitamín snižuje zarudnutí přibližně o 20 % (chronometr), a topické užití 5% vitamínu E poskytuje přirozený ochranný faktor vyšší než 3. Rovněž studie lokálního užití 5% vitamínu E v oblasti obličeje, kterou publikovali Moeller a kol. ukazuje zlepšení stavu vrásek v oblasti očního okolí a snížení zánětu způsobeného UV-zářením po jeho 4-týdenní aplikaci [20].

Vzhledem k tomu, že tokoferol a tokoferol-acetát jsou rozpustné v olejích, může jejich vyšší koncentrace činit problémy v kosmetických formulacích, kde je obsah olejů nízký (nemastné formulace).

3.2 Panthenol

Panthenol (provitamin B₅), také známý jako pantothenol a pantothenylalkohol, optický D izomer panthenolu se nazývá dexpanthenol, prekurzor kyseliny pantothenové (vitamín B₅).

Kyselina pantothenová je součástí koenzymu A, který je rozhodující pro buněčný metabolismus a přímo nebo zprostředkovaně ovlivňuje všechny metabolické procesy v těle, včetně přenosu acylové supiny v průběhu biosyntézy mastných kyselin a glukoneogeneze [21]. Panthenol také podporuje proliferaci fibroblastů a epidermální re-epitelizaci *in vitro*, tedy účinky podporující hojení ran [22]. Zvýšením syntézy lipidů v rohové vrstvě dochází ke zlepšení bariérových funkcí pokožky. Vzhledem k tomu, že je panthenol rozpustný ve vodě a hydrofobický, má zvláště účinky na pokožku, a to zejména v kombinaci s široce používaným glycerolem [23].

Panthenol je velmi dobře snášen pokožkou a nevyvolává její podráždění (zarudnutí, suchost, pálení, svědění) což vede k jeho širokému využití. Pozitivně působí na hydrataci, včetně hydratace *stratum corneum*, a tím i na zlepšení drsnosti pokožky a změny její pružnosti v oblasti *epidermis*. Může také vést ke zlepšení kožní bariéry, které pravděpodobně vysvětluje jeho ochranný účinek proti podráždění pokožky, a také jeho protizánětlivé a zklidňující účinky. Panthenol také snižuje nežádoucí účinky spojené s léčbou retinoidy [24]. Hydratační účinek panthenolu se dále využívá v péči o vlasy, které po jeho aplikaci vykazují zlepšení pružnosti, jsou měkčí a snadněji se rozčesávají.

Někteří spotřebitelé jsou citliví na specifické složky kosmetických přípravků, jako jsou např. konzervační látky, vonné látky a ochranné faktory proti slunečnímu záření, což může vyvolávat dráždivé účinky, vedoucí k zarudnutí, pálení a svědění pokožky. Začleněním panthenolu do těchto prostředků lze tyto nepříznivé účinky snížit. Přestože mechanismus tohoto pozitivního působení není znám, může mít souvislost se známými uklidňujícími a protizánětlivými účinky panthenolu [25].

3.3 Hydroxykyseliny

Do této skupiny kosmeceutik jsou zahrnuty α -hydroxykyseliny (AHA), jako je kyselina glykolová, jablečná, vinná, kyselina mléčná a citrónová; polyhydroxykyseliny jako je glukonolakton a kyselina laktobionová; a β -hydroxykyseliny jako je kyselina salicylová, do skupiny hydroxykyselin spadá také kyselina pyrohroznová (α -keto kyselina).

Mechanismus účinku těchto kyselin spočívá zejména v exfoliaci *stratum corneum*. Tato zrychlená exfoliace má za následek vylepšení textury povrchu pleti a jejího barevného odstínu. AHA mají také vlastnosti zvlhčovací (např. kyselina mléčná a její soli), proto jsou užitečné při léčbě suché pokožky.

Pokud jde o účinnost těchto kyselin na pokožku, bylo v tomto směru publikováno poměrně velké množství dat. Například studie topického použití kyseliny salicylové na předloktí ukázala zvýšenou obnovu rohové vrstvy; jednalo se o 1,5% kyselinu salicylovou aplikovanou po dobu 18,5 dnů. Dalším testem na dobrovolnících bylo (po použití kyseliny salicylové) stanovení zlepšení struktury (hladkosti) pokožky a zlepšení barvy pleti, bez jejího významného zarudnutí, nebo změny transepidermální ztráty vody (TEWL). Hydroxykyseliny jsou pokožkou dobře tolerovány, ale jejich vysoké koncentrace při nízkém pH mohou vést k podráždění a potenciální přecitlivělosti pokožky [26].

3.4 Cukerné aminy

Do kategorie známých aminocukrů spadají glukosamin a *N*-acetylglukosamin (NAG), prekurzory biopolymerní kyseliny hyaluronové. Topické použití těchto sloučenin může zvýšit hydrataci pokožky a také zmenšit jemné linky/vrásky působením na strukturní matrix pokožky. Glukosamin inhibuje proteinovou glykosylaci (*in vitro*), inhibuje aktivaci pro-tyrosinasy na aktivní enzym tyrosinasy a tím inhibici produkce melaninu [27]. Cukerné aminy mají také protizánětlivé vlastnosti. Bylo rovněž zjištěno, že lokální působení NAG vedlo ke snížené produkci melaninu a zvýšené produkci hyaluronanu, analýza genomu pak ukázala změny v expresi několika genů zodpovědných za tvorbu melaninu [28, 29].

Další studie prokázaly, že perorálním užíváním těchto látek jedinci se suchou pokožkou došlo ke zlepšení hydratace pokožky [30]. Zevní působení 2% NAG pak mělo významný účinek při zmenšení jemných linek/vrásek v oblasti očí [28].

Při praktickém použití glukosaminů může být problémem jejich stabilita, jelikož snadno podléhají Maillardovým reakcím, které způsobují hnědnutí produktů. Do jisté míry se tomu může zamezit užitím antioxidantů a kyselým pH. NAG je podstatně stabilnější, avšak oba tyto materiály mohou, při vysokých dávkách (vyšší než 2 %) způsobovat lepivost kosmetických produktů, což nemusí být pro spotřebitele přijatelné.

3.5 Ceramidy

Ceramidy jsou lipidy důležité pro normální fungování *stratum corneum*, její bariérové funkce. Patří do skupiny lipidů složených ze sfingosinu a mastné kyseliny, vytvářející v biologických systémech lamelárně strukturované, tzv. lipidní dvojvrstvy. Interakce ceramidových lamelárních struktur s proteiny v povrchové vrstvě utváří funkční, vodu vázající systém, tzv. NMF (Natural Moisturizing Factors) schopný v povrchových epidermálních vrst-

vách udržovat konstantní a optimální obsah vody, bránit vysychání pokožky. Dalšími klíčovými lipidovými složkami kožní bariéry jsou cholesterol a mastné kyseliny, všechny tři složky jsou pro pokožku nepostradatelné, plní významnou biologickou ochrannou funkci regulující průnik vody a zevně působících látek, zmírňují vliv faktorů životního prostředí (např. UV záření) [31].

Externě dodávané ceramidy, začleněné mezi lipidy *stratum corneum*, zlepšují bariérovou funkci pokožky, a to především u pleti vykazující pokročilé známky stárnutí, ať už se jedná o poškození akutní nebo chronické.

3.6 Kovy

V kosmetických přípravcích se mohou v malém množství nacházet kovy jako zinek, měď, selen, stroncium, hořčík a mangan ve formě solí a komplexů s organickými sloučeninami (např. oxid zinečnatý, Cu-peptid a selenomethionin).

Kovy mají své specifické funkce v kůži, které jsou často spojené s jejich rolí jako kofaktorů činnosti metaloenzymů. Určité organokovové komplexy jsou funkční sami o sobě, například pyrrithion-zinek a selen-sulfid fungují jako protiplísňové látky, které jsou účinné proti lupům. Zinek je také spojen s antioxidačním proteinem superdismutázou a metalothioninem, takže oxid zinečnatý má potenciál jako zdroj zinku pro syntézu těchto proteinů. Měď je kofaktorem mnoha proteinů, včetně lysyl oxidázy a prolylhydroxylázy, enzymů, které jsou důležité pro syntézu kolagenu. Selen je kofaktorem antioxidačních enzymů glutathion peroxidázy a thioredoxin reduktázy.

Oxid zinečnatý se používá díky svému působení proti podráždění pokožky, které se testovalo formou náplastí aplikovaných na předloktí [32]. Toto testování ukázalo, že oxid zinku významně zabraňuje povrchovému podráždění pokožky. Povrchové použití Cu-peptidového komplexu může vyvolat takové změny, které vedou k zabránění stárnutí pokožky. Topická aplikace selenomethioninu zabraňuje zarudnutí indukovanému UV zářením a může efektivně působit i proti vráskám [19].

4 PEPTIDY

4.1 Historie

Peptidy byly popsány na počátku 19. století Emilem Fischerem a Emilem Hofmeisterem [33]. V dalších letech pak následoval výzkum, který kromě rozšíření vědomostí o přírodních a syntetických peptidech vedl k vývoji syntetických peptidů, např. Cu-GHK (Cu-peptidu; glycin-histidin-lysin), připraveného v roce 1973 Lorenem Pickardem, který byl následně v 80. letech začleněn mezi produkty péče o pleť. Vývoj dalších peptidů pokračoval v poměrně pomalém tempu, a to až do roku 2000, kdy byl po předchozích testech zaveden do používání palmitoyl pentapeptid-4, který nyní patří mezi dobře známé a zdokumentované peptidy. Od té doby bylo vyvinuto mnoho krátkých, stabilních syntetických peptidů, které mají svoji úlohu v syntéze extracelulární matrice, v regulaci pigmentace a přirozené imunity pokožky. Tyto peptidy se používají ke stimulaci tvorby kolagenu, hojení ran, „Botox-like“ liftingovému efektu, mají bělící účinky a uplatňují se také jako antioxidační a antimikrobiální látky [34].

4.2 Peptidy

Peptid je chemická sloučenina organického původu, která vzniká spojením aminokyselin peptidovou vazbou. Peptidy se dělí podle počtu aminokyselin (AMK), ze kterých jsou složeny. Peptidy obsahující 10 AMK se nazývají oligopeptidy, polypeptidy o vysoké molekulové hmotnosti se obecně nazývají bílkoviny.

4.3 Působení peptidů jako kosmeceutik

Peptidy jsou jednou z nejzajímavějších kategorií kosmeceutik. Tyto krátké sekvence řetězců aminokyselin mohou být začleněny do kosmetických formulací pro potlačení příznaků stárnutí pokožky. Velká část výzkumů prokazujících roli aminokyselin a peptidů ve změnách kožních projevů stárnutí, byla sekundárním benefitem výzkumu zaměřeného primárně na hojení ran [35].

V posledních dvou desetiletích bylo vyvinuto mnoho nových peptidů pro kosmetické účely a výzkum dalších, specializujících se na vnitřní i vnější stárnutí pokožky, stále probíhá. Aktuální kosmeceutické peptidy mohou být klasifikovány jako peptidy 1) signální, 2) nosné a 3) inhibitory neurotransmiterů a enzymů se specifickými vlastnostmi, kterými

je možno dosáhnout dobrých účinků v oblasti péče o pleť. Původně výzkumníci předpokládali, že by molekulová váha peptidu, schopného projít kožní bariérou, měla být menší než 500 Da [36]. Novější studie však ukazují, že kožní bariérou mohou procházet i větší molekuly, což je výhodné zejména v případě suché a stárnoucí pokožky [37]. Vzhledem k tomu, že se syntetické peptidy skládají z aminokyselin, které mohou být modifikovány, lze peptidy upravovat pro různé funkce, jako je zvýšené pronikání pokožkou (se zvýšenou zvláštní vazbou na receptor), lepší stabilitu a rozpustnost.

4.4 Peptidy používané jako kosmeceutika

V Tab. 1 jsou uvedeny některé peptidy používané v kosmetických prostředcích, u kterých byly provedeny klinické studie, potvrzující jejich účinnost na pokožku. Od roku 2000 se použití peptidů v produktech kosmetiky dramaticky zvýšilo, což vyvolává potřebu získat hluboké znalosti zejména o fyziologických principech jejich použití. K dispozici je ale bohužel dostupné pouze malé množství údajů ze studií *in vivo*. Komerční potenciál těchto molekul je vysoký, a to zejména v případě peptidových sekvencí, které prokazují kosmetickou aktivitu, zejména proti stárnutí.

Použití peptidů v kosmetické praxi ovšem vyžaduje, aby byl jejich účinek důkladně ověřen potřebnými testy. Zde však často vyvstává problém, protože peptidy jsou aplikovány ve směsi substancí v kosmetických přípravcích a jsou testovány tak, že v mnoha případech je skutečný účinek jednotlivých peptidů na kůži nejasný. Výsledky některých klinických studií byly totiž získány za použití formulací obsahujících jak peptidy, tak i další aktivní složky (například niacinamid a vitamíny C, E), nebo v přítomnosti krémového základu, a proto jsou tvrzení o účinnosti kosmeceutik omezeny na tvrzení o zlepšení vzhledu pokožky. Navíc klinické studie prokazující jejich účinek nejsou často publikovány ve vědeckých časopisech, a některé studie byly provedeny s malým počtem účastníků. Na druhé straně jednoznačný důkaz o zlepšení kosmetických funkcí peptidů by mohl vést k jejich překlasifikování do kategorie léčiv, což nemusí být pro spotřebitele ani výrobce žádoucí.

Pozitivní klinické účinky a principy působení mnoha peptidů nejsou podrobně vysvětleny, a stále ještě existují otázky, jako je například, jak je možné překonat kožní bariéru a umožnit pronikání těchto sloučenin hlouběji do pokožky, a tím zvýšit jejich koncentraci v cílovém místě v *dermis*? [38]

Tab. 1: Přehled peptidů vhodných pro topické použití [39]

Typ peptidu	Název peptidu
Matrikin peptidy	Karnosin, Cu-tripeptid, Trifluoracetyl-tripeptid-2, Tripeptid-10 citruline, Acetyl tetrapeptid-5, Acetyl tetrapeptid-9, Acetyl tetrapeptid-11, Tetrapeptid-21, Hexapeptid, Hexapeptid-11, Palmitoyl pentapeptide-4, Palmitoyl tripeptide-3/5, Palmitoyl tetrapeptide-7, Palmitoyl hexapeptide-12, Palmitoyl oligopeptid, Palmitoyl tripeptid-1, Pentapeptid-6
Nosné peptidy	Matrixyl® (palmitoyl pentapeptid-3), Cu-tripeptid, Mangantripeptid-1
Peptidová mimetika, peptidy inhibující neurotransmitery	Argireline® (acetyl hexapeptid-3), Pentapeptid-18, Pentapeptid-3, Tripeptide-3
Enzymatické peptidy	Sójový peptid, hedvábný fibrilární protein (sericin), rýžové oligopeptidy (černá rýže)
Strukturální protein	Keratin

4.4.1 Signální peptidy

Signální peptidy stimulují produkci proteinové matrice a syntézu kolagenu. Jsou to molekuly se schopností zvýšit dermální remodelaci prostřednictvím přímé stimulace lidských dermálních fibroblastů, inhibici kolagenázy a produkci základní substance. Peptidy stimulující produkci proteinové matrice jsou uvolněny z extracelulární matrix, a jsou nazývány matrikiny, nebo stimulatory kolagenu. V přítomnosti těchto peptidů dochází k proliferaci kolagenu, elastinu, proteoglykanu, zvyšuje se množství glykosaminoglykanu a fibronectinu. V důsledku toho dochází ke zlepšení pigmentací způsobených poškozením pokožky UV zářením, dochází k redukci vrásek a regeneraci pokožky a zvyšuje se i její pružnost. Do této skupiny peptidů lze zařadit následující látky.

Karnosin a N-Acetylkarnosin

Karnosin (dipeptid β -Ala-His) je dobře zdokumentovaný antioxidant s aktivitou podporující hojení ran, který se přirozeně vyskytuje ve vysokých koncentracích ve svalových a mozkových tkáních. Ve formě lipofilního palmitoyl β -Ala-His peptidu je schopen proniknout do *stratum corneum* a nižších dermálních kožních vrstev [40].

Trifluoracetyl-tripeptid-2

Jedná se o tripeptid se sekvencí TFA-Val-Try-Val-OH který působí tím, že brání produkci progerinu, který je považován za akcelerátor stárnutí buněk. Jeho hodnocení je možné posoudit ze dvou *in vivo* studií. První ze studií zkoumala jeho účinnost proti vráskám a povislé pokožce v oblasti dolní čelisti na 10 dobrovolnicích (56 dní), kdy byla k hodnocení stavu pokožky použita profilometrie. Druhá studie se cíleně zaměřila na sledování pevnosti, elasticity, pružnosti a viskoelasticity pokožky u 13 zdravých dobrovolníků (28 dní). Výsledky studie prokázaly, že trifluoracetyl-tripeptid-2 má pozitivní vliv na redukci vrásek a zvýšení pevnosti a pružnosti pokožky [41].

Tripeptid-10 citrulin

Decorinyl™; Lys α -Asp-Ile-Citrulin cílí na strukturu a zpevnění kolagenních vláken. V publikované studii výsledky se 43 zdravými dobrovolníky (ve věku 40 – 58 let) prokázaly, že tripeptid-10 citrulin ovlivňuje homogenitu fibrilárního vlákna, zvětšení průměru vlákna, zvýšení pružnosti kůže a zlepšení soudržnosti kolagenních vláken [42].

Palmitoyl tripeptid-1

Palmitoyl tripeptid-1 (pal-GHK), charakterizován sekvencí Palmitoyl-Gly-His-Lys, patří do skupiny palmitoyl oligopeptidů, což jsou signální peptidy určené pro obnovu kolagenu. Jejich účinky jsou srovnatelné s účinky kyseliny retinové. Bez nežádoucích projevů podráždění pokožky stimulují syntézu glykosaminoglykanu a tvorbu kolagenu. Výsledkem je zpevnění epidermis a snížení hloubky vrásek. V kosmetickém průmyslu se používají v produktech péče proti vráskám a do make-upů.

Ve studii, kdy byl aplikován krém obsahující palmitoyl tripeptid-1 patnácti ženám dvakrát denně po dobu 4 týdnů, bylo zaznamenáno významné snížení hloubky a délky vrásek a snížení drsnosti pokožky. U další studie na 23 zdravých dobrovolnicích, trvající po dobu čtyř týdnů, byl zaznamenán malý, ale statisticky signifikantní rozdíl v síle (tloušťce) pokožky v porovnání s pokožkou, která byla ošetřena samostatným nosičem [43].

Kombinace pal-GHK tripeptidu a pal-GQPR tetrapeptidu je na trhu uváděna pod obchodním názvem Matrixyl™3000. Slepá, randomizovaná klinická studie s 28 dobrovolnicemi, u kterých byl aplikován krém s placebem a krém s peptidy, prokázala snížení hloubky vrásek, zvýšení objemu a hustoty, zlepšení struktury a drsnosti pokožky, stejně jako zmenšení plochy vyskytujících se hlubokých vrásek a zlepšení odstínu pleti [44].

Palmitoyl pentapeptide-4

Matrixyl®; Pal-Lys-Thr-Thr-Lys-Ser-OH; PAL-KTTKS-OH je malý, velmi specifický biologicky aktivní peptid, stimulující produkci elastinu, fibronektinu, glukosaminoglykanu a kolagenu (typu I, III a IV), který podporuje tvorbu extracelulární matrice a hojení ran. KTTKS je spojen s kyselinou palmitovou, aby se zvýšila jeho lipofilita a tím jeho průnik přes *epidermis* do *dermis*.

Hodnocením Pal-KTTKS ve dvojitě zaslepené, placebem kontrolované studii, kdy byl prostředek aplikován na pravou perorbitální krajinu dvakrát denně po dobu 28 dnů [45], byl optickou profilometrií prokázán kvantitativní pokles hloubky o 18 %, šířky vrásky o 37 % a tuhosti pokožky o 21 %. Tyto výsledky byly potvrzeny v dalších dvojitě slepých, placebem kontrolovaných studiích u žen (42 a 35 probandek), s mírnými (středními) až výraznými perorbitálními vráskami [46].

Dvojitou zaslepenou, placebem kontrolovanou, randomizovanou studií zahrnující 93 subjektů, bylo definováno zmenšení a zjemnění linek, které vedlo ke zlepšení stavu vrásek. Tato studie byla provedena k posouzení klinické účinnosti PAL-KTTKS [47]. V další čtyři měsíce trvající dvojitě zaslepené studii, používalo 49 žen buď PAL-KTTKS, nebo masťový základ dvakrát denně na tvář. Výsledky ukázaly, že PAL-KTTKS vykazoval významné zlepšení v charakteristice drsnosti pokožky, objemu a hloubky vrásek, ve srovnání se základem [48].

4.4.2 Nosné peptidy

Nosné peptidy dodávají a stabilizují stopové prvky, jako je měď a mangan, které jsou nezbytné pro hojení ran a syntézu enzymů, potřebných k udržování dobrého stavu *dermis*. Tyto peptidy se podílejí na transportu mědi a manganu do kožních buněk. Lysyl oxidáza je důležitý enzym pro syntézu kolagenu a elastinu, její aktivita je závislá na působení mědi, stejně tak tyrosinasa a cytochrom-c oxidázy vyžadují pro svoji funkci měď. Superoxiddismutáza působí jako důležitý antioxidant a vyžaduje měď jako kofaktor [49]. Použití nosných peptidů jako kosmeceutik vede ke zlepšení kožní struktury a textury v důsledku zvýšení hustoty a tloušťky kůže, zmírňuje linky, vrásky a hyperpigmentace.

Cu-tripeptid

Cu-GHK; Měď Gly-L-His-L-Lys je jedním z nejlépe prozkoumaných peptidů, patří mezi dobře snášené a účinné přírodně se vyskytující sloučeniny. Působí jako signální (GHK) a nosný peptid (Cu-GHK), podporuje a reguluje syntézu kolagenu, elastinu, proteoglykanu

a glykosaminoglykanu (GAG), vykazuje rovněž protizánětlivé a antioxidační účinky. V kosmetických aplikacích je Cu-GHK používán v produktech proti stárnutí, proti vráskám, po opalování, na obnovu pokožky, jako hydratační složka a prostředek stimulující růst vlasů [50].

Účinnost Cu-GHK byla potvrzena v několika studiích, a to v různých oblastech, mezi něž patří zvýšení proliferace keratinocytů, zlepšení vzhledu, pevnosti, pružnosti, tloušťky kůže, hloubky vrásek, hyperpigmentací, kožního kolagenu, posílení ochranné kožní bariéry a zlepšení vzhledu pokožky. Rovněž *in vitro* experimenty prokázaly, že Cu-GHK zvyšuje a stimuluje syntézu kolagenu, glykosaminoglykanů a dalších molekul extracelulární matrix. Výše uvedené účinky tohoto peptidu byly potvrzeny několika placebem kontrolovanými klinickými studiemi [51].

Pilotní klinická studie, provedena na 20 ženách, porovnávala produkci kolagenu po každodenní topické aplikaci krémů s obsahem 1) Cu-GHK, 2) vitamínu C a 3) kyseliny retinové trvající jeden měsíc. Množství kolagenu bylo stanoveno pomocí vzorků z biopsie kůže s použitím imunohistologických technik. Po jednom měsíci bylo prokázáno zvýšení množství kolagenu u 70 % léčených pacientů, ve srovnání s 50 % pacientů léčených vitamínem C a 40% kyselinou retinovou [52].

V další studii byl krém s Cu-GHK aplikován dvakrát denně po dobu 12 týdnů na 67 ženách. Cu-GHK zlepšil vzhled pokožky poškozené foto-stárnutím. Histologickou analýzou bylo opět potvrzeno, že topické použití produktů s Cu-GHK zvýšilo tloušťku kůže v rozsahu *epidermis* a *dermis*, a že v pokožce byla významně stimulována proliferace keratinocytů [53].

4.4.3 Peptidy jako inhibitory neurotransmiterů

Další strategií, s cílem zmírnit známky přirozeného stárnutí, je zamezení svalové kontrakce vedoucí k fixování linek a vrásek ve *stratum corneum*. U topických syntetických peptidů, které napodobují aminokyselinovou sekvenci synaptického proteinu SNAP-25 (který je nezbytným proteinem pro úspěšné uvolňování acetylcholinu) bylo prokázáno, že fungují jako inhibitory specifické neurosekrece, jejich aplikací dochází ke snižování svalové kontrakce interakcí neurotransmitter-ovlivňujícího peptidu s nervosvalovou ploténkou. Z tohoto důvodu jsou tyto peptidy nazývány inhibitory neurotransmiterů [39].

Peptidy ovlivňující neurotransmitery, začleněné do kosmeceutik, byly vyvinuty jako napodobeniny neurotoxinu *botulinum*. V současné době je pro podkožní, intradermální a intramuskulární aplikace do obličejových vrásek schválen pouze botulotoxin typu A (BTX-A)

[54]. Tyto jednořetězcové polypeptidy inhibují opakované kontrakce vnitřních svalů ovládajících výraz obličeje, čímž dochází k redukci vrásek obličeje.

Acetyl hexapeptid-3

Tento peptid s komerčním názvem Argireline® a sekvencí aminokyselin Acetyl-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂ inhibuje uvolňování neurotransmiterů, které následně působí na vyhlazení vrásek, změnu pevnosti a tónu pleti. Acetyl hexapeptid-3 je kopií synaptosomálně asociovaného proteinu SNAP-25, který inhibuje tvorbu komplexu SNARE a uvolňování katecholaminu [55]. Teoreticky může tento peptid napodobovat účinky injekcí botulotoxinu.

Pentapeptid-3

VIALOX®; Gly-Pro-Arg-Pro-Ala je odvozen z hadího jedu (působí obdobně jako tubokurarin, hlavní složka kurare), který je antagonistou receptoru acetylcholinu a blokuje nervy na postsynaptické membráně, což vede k uvolnění svalů.

Klinické studie prokázaly po jeho 28-denním používání snížení vrásek o 49 % a zmenšení drsnosti pokožky (47 %) [56].

Pentapeptid-18

Leuphasyl®; Tyr_D-Ala-Gly-Phe-Leu napodobuje přirozený mechanismus působení enkefalinu a inhibuje neuronální aktivity a uvolňování katecholaminu. Jeho účinky jsou podobné botoxu – zmenšuje linky a vrásky a zlepšuje pevnost a tón pleti.

V *in vivo* studii provedené na 43 ženách, které používaly krém s obsahem 1) pentapeptidu-18 (0,05 %), 2) acetylhexapeptidu-3 (0,05 %) a 3) jejich kombinace, se sledovaly změny na pokožce vedoucí k redukci vrásek. Všechny krémy vykazovaly dobrou účinnost, která činila u pentapeptidu-18 zlepšení o 11,54 %, acetylhexapeptidu-3 o 16,26 % a u jejich vzájemné kombinace 24,62 %. Studie tedy prokázala synergický efekt uvedených peptidů a zvýšení účinnosti krému obsahujícího jejich kombinaci [36, 57].

4.4.4 Peptidy inhibující enzymy

Sójové oligopeptidy, fibroin z přírodního hedvábí a rýžové peptidy působí na kožní buňky prostřednictvím nepřímé inhibice enzymů. Tato kategorie peptidů vykazuje kosmeticky slibné výsledky, ale studií *in vivo*, které by jednoznačně potvrdily jejich účinky je jen velmi málo.

Sójové peptidy

Sójové oligopeptidy se získávají ze sójových proteinů. Jsou složeny ze 3-6 aminokyselin, a jejich obvyklá molekulová váha se pohybuje v rozmezí 300-700 kDa. Biologická aktivita sójových oligopeptidů je různorodá, působí např. jako antioxidanty, snižují krevní tlak a koncentraci krevních lipidů. Rovněž se zdá, že lokálně používané sójové oligopeptidy chrání proti foto-poškození pokožky, které vyvolává UVB záření [58].

Pseudo-randomizovaná studie účinků sójového peptidu (10 žen, *in vivo/in vitro*) potvrdila signifikantní zvýšení hodnot glykosaminoglykanu vedoucí ke zvýšené syntéze kolagenu. Tato studie ukázala potenciál v použití sójového proteinu v přípravcích proti stárnutí pokožky [59].

Rýžové peptidy

Jsou používány speciálně zpracované rýžové otruby z černé rýže, které jsou zdrojem peptidů inhibujících tyrosinazu. V klinické studii [55] bylo zjištěno, že formulace obsahující ni-osomy s obsahem bioaktivních látek z rýžových otrub, vykazují vlastnosti působící proti stárnutí pokožky [60]. Data *in vivo* pro oligopeptidy z černé rýže nejsou k dispozici.

4.4.5 Peptidy odvozené od strukturních proteinů

Keratin

U topických formulací obsahujících keratin jsou popsány hydratační, opravné a potenciálně ochranné vlastnosti proti UV záření.

Placebem kontrolovaná studie *in vivo* (devět žen se suchým typem pleti) testovala krém obsahující keratin (molekulová hmotnost < 1000 Da) s koncentrací 3 % a srovnávala jeho účinnost s placebem, kterým byla deionizovaná voda (3 %) při topické aplikaci krému na ruce. Výsledky získané pomocí biofyzikálních testů prokázaly, že krém s keratinem zlepšil stav pokožky, její schopnost zadržet vodu, hydrataci a pružnost pokožky. Výsledky také ukázaly, že ošetření krémem na bázi keratinu může zabránit některým účinkům spojeným s vystavením pokožky povrchově aktivním látkám [61]. Počet účastníků studie byl velmi malý a žádné podobné informace o způsobu působení těchto peptidů nejsou k dispozici [39].

5 ARGIRELINE

Argireline®, syntetický hexapeptid, který byl stručně představen v kap. 4.4.3, je jednou z nových možností jak změnit vzhled stárnoucí pokožky. Jedná se o peptid, který zmenšuje již vzniklé obličejové vrásky a účinně brání rozvoji vrásek nových, a to zejména na čele a v oblasti kolem očí.

5.1 Složení

Argireline® (acetyl hexapeptid-3) obsahuje sekvenci následující aminokyselin: Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂, a je fragmentem SNAP-25, vycházejícím z N-konce tohoto proteinu. Komplex SNAP-25 je součástí SNARE komplexu nezbytného pro exocytózu synaptických váčků, a tedy k uvolnění neurotransmiterů.

Tento peptid představuje výsledek úsilí o nalezení efektivní, ale méně toxické verze botulotoxinu typu A. Ve studiích bylo zjištěno, že Argireline® může inhibovat ukotvení vezikulů tím, že brání vzniku ternárního rozpustného N-ethylmaleinimidu, citlivého faktoru proteinového receptoru (SNARE) komplexu. Tyto účinky se úzce týkají základních biochemických mechanismů tvorby vrásek [62].

5.2 Funkce, vlastnosti

Argireline® inhibuje opakované kontrakce vnitřních výrazových svalů obličeje, a tím snižuje hyperkinetické obličejové linky [63]. Svou strukturou napodobuje aminokyselinovou sekvenci synaptického proteinu SNAP-25, je specifickým inhibitorem neurosekrece v mikromolárních koncentracích a vykazuje schopnost efektivně pronikat přes kůži [64]. U těchto nových krátkých proteinových sekvencí byla sledována membránová permeabilita, při zachování biologické aktivity. Hexamer odvozený od N-terminální domény SNAP-25, zasahuje do sestavy ternárního komplexu SNARE a inhibuje Ca²⁺ ionty závislé na uvolňování katecholaminu z chromafinních buněk [65].

Toxikologická a iritační data vypovídají, že Argireline je dobře snášen. Ve srovnání s botulotoxinem vykazuje tento krátký peptid nízkou akutní toxicitu (2000 mg/kg), pro botulotoxin je to 20 ng/kg. Také nevykazuje primární podráždění pokožky v intrakutánním testu genotoxicity (Amesův test), čímž je jeho použití velmi bezpečné [66].

Další zajímavá data byla získána v klinické studii provedené na myších, kde byly odebrány histologické vzorky kůže ze dvou skupin myši před a po ukončení aplikace Argirelinu®. Studie byla kontrolována placebem (plocha cca 1 cm kůže). Mikroskopicky byl u skupiny

myší ošetřovaných Argirelinem® zjištěn pevnější kolagen s větším počtem kolagenních vláken, která byla hustá a kompaktní. Rozdíl se projevil především ve zvýšení množství kolagenu typu I a naopak sníženém počtu vláken kolagenu typu III. Toto zjištění prokázalo významnou aktivitu Argirelinu® proti vráskám [67]. Kolagen typu I je nejrozšířenějším kolagenem v organismu a tvoří silné svazky vláken, vlákna kolagenu typu III jsou volněji a méně pravidelně uspořádána, a proto je kolagen typ I efektivnější při zpevnění pokožky a redukci vrásek.

Jako další lze zmínit studie, kterými jsem se zabývala ve své bakalářské práci [68]. Zde je možno jmenovat studii kontrolovanou placebem (60 dobrovolníků od 25 do 60 let, muži i ženy), ve které byl aplikován v jedné skupině krém s acetyl hexapeptidem-3 o koncentraci 10 % a ve skupině druhé placebo, dvakrát denně po dobu 4 týdnů. Ve skupině probandů používajících acetyl hexapeptid-3 došlo ke zlepšení u 48,9 % probandů, ve srovnání s 0 % ve skupině s aplikovaným placebem. Účinnost Argirelinu® byla odstupňována na pětibodové škále od 0 (žádná změna) po 4 (100 % zlepšení). Celková účinnost přípravku se vypočítala jako procento dobrovolníků, u nichž došlo po 4 týdnech ke zlepšení na stupni 3 nebo 4. V téže studii bylo pozorováno snížení všech parametrů vedoucích k poklesu drsnosti pokožky [62, 69].

6 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo sledovat působení syntetického hexapeptidu s komerčním názvem Argireline® a objektivně zhodnotit jeho vliv na pokožku při běžném užívání. Argireline® je řazen do kategorie kosmeceutik, které by měly pozitivně ovlivnit stav stárnoucí pokožky, vést k celkové změně vzhledu, tj. zmenšení stávajících obličejových vrásek a snížení jejich počtu. V případě Argirelinu® spočívá jeho účinnost ve snížení svalových kontrakcí vedoucích k tvorbě vrásek, a to zejména kolem očí.

Pro získání potřebných dat byla použita metoda, založená na propustnosti světelného záření silikonovými replikami pokožky, kterou využívá komerčně dostupný přístroj Skin-Visiometer®. Dalším cílem práce bylo ověřit metodiku stanovení textury kůže pomocí Visiometru a definovat kritické body, které je třeba zohlednit, aby tato technika poskytla spolehlivé výsledky.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 MATERIÁLY A METODIKA

7.1 Materiály

Argireline® (Lipotec SAU, Španělsko)

Argireline® pro přípravu testovaných formulací byl laskavě poskytnut firmou Syncare (ČR) ve formě roztoku připraveného rozpuštěním 1 g peptidu ve 2000 ml deionizované, UV ošetřené vody. K tomuto roztoku bylo pro stabilizaci přidáno 0,5 % Euxylu PE 9010 (2-Phenoxyethanol). Koncentrace peptidu v roztoku tedy činila 0,05 %.

Carbopolový gel (Fagron, ČR)

Složení hydrogelového (karbomerového) základu dle INCI: *Carbomerum 980, Aqua purificata, Methylparabenum, Propylparabenum, Trolaminum*

Charakteristika: Karbomerový gel, gel kyseliny poly(akrylové), je bezbarvý a transparentní. Obsahuje 0,7 % kyseliny polyakrylové, hodnota pH gelu je cca 4,5. Gel je čistý a částečně neutralizovaný (slabě kyselý).

Použité chemikálie

- Jarischův roztok, složení dle INCI: *Aqua, Glycerin, Bboric acid 3 %*;
- Dvousložkový silikon pro přípravu kožních replik (Courage + Khazaka electronic GmbH, Německo);
- Odličovač Bioderma Sensibio H₂O, Laboratoire Dermatologique (FRA), složení dle INCI: *Water (Aqua), PEG-6 Caprylic/Capric glycerides, Propylene glycol, Cucumis sativus (Cucumber) fruit extract, Mannitol, Xylitol, Rhamnose, Fructooligosaccharides, Disodium EDTA, Cetrimonium bromide*.

7.2 Použité přístroje a pomůcky

- Skin-Visiometer® SV 700 USB (Courage + Khazaka electronic GmbH, Německo);
- Software Visiometer SV 700 USB Windows pro zpracování obrazu a dat pro výpočet parametrů měření;
- Vakuové čerpadlo (vývěva) na míchání silikonových komponentů s ručním podtlakovým mixérem a pedálem. Tlak: 550 – 650 kPa;
- TFA 30.5041.02 digitální teploměr s vlhkoměrem. Metroservis s.r.o.;
- Digitální váhy (Kern EW 420-3NM);

- Laboratorní míchadlo Heildorph (VWR, Česká republika);
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky z plastu;
- Spotřební materiál pro přípravu silikonových replik: papírové oboustranně lepící kroužky, plastová krycí fólie, plastové kalíšky a tyčinky, papírové rámečky pro uchycení repliky).

7.3 Příprava modelových formulací gelů s obsahem Argirelinu

Pro testování byly připraveny dvě formulace s odlišným obsahem roztoku Argirelinu. První formulace obsahovala 5 a druhá 12,5 hm. % připraveného roztoku Argirelinu o koncentraci peptidu 0,05 %. Pro vlastní přípravu gelů byly obě ingredience, tedy carbomerový gel a roztok Argirelinu, naváženy v množstvích uvedených v Tab. 2, a důkladně homogenizovány pomocí laboratorního míchadla. Formulace pak byly rozplněny do kelímků, které byly pro odstranění možné mikrobiální kontaminace ošetřeny UV zářením. Takto připravené a označené vzorky pak byly předány probandkám. V této souvislosti je třeba poznamenat, že koncentrace Argirelinu® uváděná na komerčních kosmetických přípravcích představuje množství Argirelinového roztoku, nikoliv faktické množství Argirelinu® – peptidu. Toto značení bylo proto použito i v diplomové práci.

Gelová formulace byla zvolena na základě konzultace s lékařem – dermatologem, který použití doporučil vzhledem k její předpokládané dermatologické nezávadnosti a toleranci k pokožce v oblasti periorbitální krajiny. Dále bylo toto vehikulum upřednostněno pro svoje jednoduché složení, jelikož další aktivní látky by mohly případně ovlivnit pokožku, a tím i výsledky měření.

Tab. 2: Složení formulací Argirelinu® použitých v testu

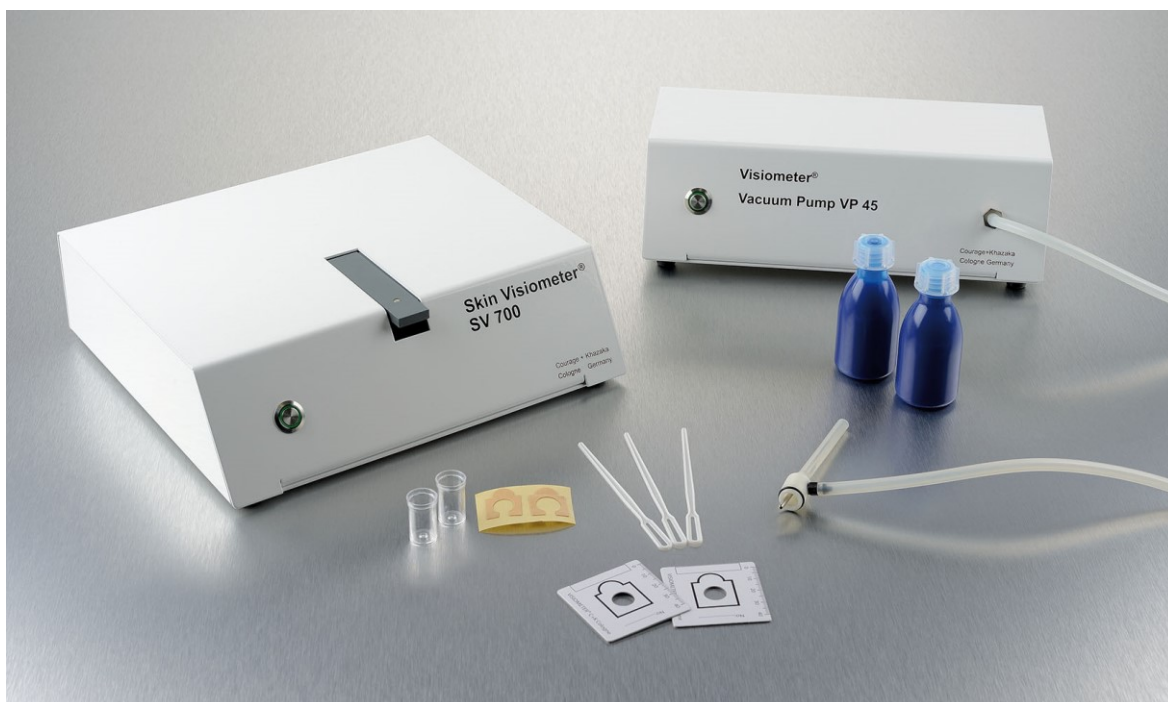
Koncentrace roztoku Argirelinu [%]	Hmotnost carbomeru [g]	Hmotnost roztoku Argirelinu [g]
5	350	19
12,5	350	51

7.4 Metodika stanovení účinnosti formulací proti vráskám

7.4.1 Princip měření

Praktická část diplomové práce je rozdělena do dvou oddílů, první popisuje metodiku testování připravených kosmetických formulací s obsahem Argirelinu®. Dále je představena metoda založená na měření profilu (topografie) otisků kožního povrchu, včetně přístrojového vybavení, která byla použita ke zjištění účinnosti připravených formulací na kůži. Druhá část diplomové práce se zabývá vyhodnocením shromážděných dat získaných z dotazníkového šetření, které hodnotí vliv Argirelinu na pokožku a působení jeho rozdílných koncentrací na zlepšení stavu periorbitálních vrásek.

Pro měření byl používán systém Skin-Visiometer® SV 700, který pracuje na principu měření intenzity světelného záření propuštěného silikonovou replikou (otiskem) pokožky. Přístroj je kromě zdroje světla vybaven rovněž integrovanou CCD kamerou s USB rozhraním pro připojení k PC.



Obr. 1: Sestava Skin-Visiometer® SV 700 USB, vakuová pumpa a spotřební materiál k výrobě silikonových otisků [70]

Skin-Visiometer® SV 700 USB je zavedeným přístrojem pro vyhodnocení topografie (mikro-reliéfu) pokožky pomocí měření transmise světla. Princip měření je založen na průchodu

světla velmi tenkou speciální silikonovou replikou modré barvy. Průsvitný silikon obsahuje konstantní koncentraci modrého pigmentu schopného absorbovat záření. Výsledkem jsou 2D či 3D obrazy sledované pokožky, ze kterých jsou na základě nejmenších a nejhlubších vrásek stanoveny charakteristické parametry kožního povrchu.

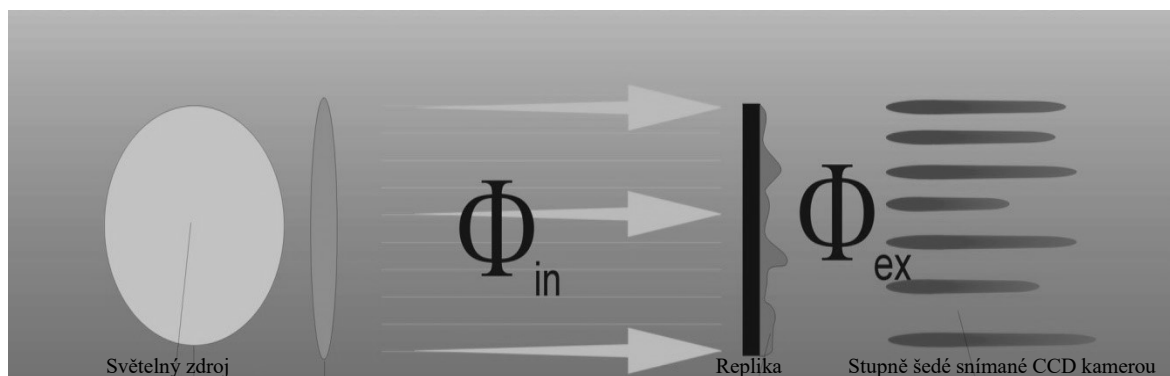
Po přípravě je replika (otisk) kůže, připravená z tohoto modrého, dvousložkového silikonu vložena mezi světelný zdroj a paralelně s ním umístěnou CCD kameru, kterou se snímá prošlé světelné spektrum, jež je zpracováno pomocí softwaru. Světlo je absorbováno v závislosti na tloušťce repliky, snížení intenzity světla po průchodu otiskem závisí na délce optické dráhy světelného paprsku, tedy na tloušťce otisku, resp. hloubce vrásky. Replika představuje negativní otisk kůže, tj. vrásky jsou v replice vyšší, protože silikon je v tomto místě silnější. Množství absorbovaného světla je určeno Lambert Beerovým zákonem (Rov. 1)

$$\Phi_{ex} = \Phi_{in} \cdot e^{-kd} \quad (1)$$

Kde:

d = délka optické dráhy

k = absorpční konstanta



Obr. 2: Princip měření pomocí přístroje Skin-Visiometer® [70, upraveno]

CCD-kamera měří světlo, které proniklo do repliky ve stupních šedi. Na obrazovce počítače je zobrazen digitální obraz výšek (x, y) a hloubek (z) v odpovídající klasifikaci/úrovně šedé (0 = černá, 256 = bílá), u kterých jsou známy trojrozměrné souřadnice pro každý jednotlivý pixel. Pomocí Visiometru je možné stanovit hloubku vrásek od 20 – 300 μm. Vyhodnocení a vizualizace hloubky každého pixelu v obraze je provedeno v krátkém časovém intervalu (řádově sekundy). Software umožňuje okamžitou analýzu snímku, způsob měření podává okamžité informace díky známým souřadnicím x, y a z. Tato skutečnost umožňuje vypočítat nejen standardní parametry drsnosti, ale i speciální parametry povrchu pokožky. V rámci

studie vlivu Argirelinu® a jeho vlivu jako kosmeceutika na pokožku, byly zejména vyhodnocovány parametry drsnosti R1 až R5.

7.4.2 Počet a výběr probandů

Studie se zúčastnilo 25 zdravých žen ve věku 35 - 65 let, přičemž věkový průměr činil 50 let (prostý aritmetický průměr). Nejčastěji zastoupená hodnota (modus) souboru byl 44 let. Výběr probandů a postup testování se řídil principy zakotvenými v Mezinárodní etické směrnici pro biomedicínský výzkum zahrnující lidské účastníky [71, 72]. Všechny probandky splnily podmínky pro zařazení do provedené studie. Za tímto účelem jim bylo předloženo prohlášení účastníka studie (Příloha P1) a podepsaly informovaný souhlas s účastí ve studii (Příloha P2). Všechny dobrovolnice daly souhlas k zařazení do studie a měly právo v průběhu studie kdykoliv odstoupit. Před ukončením studie neodstoupila ze studie žádná testovaná osoba. Pro další vyhodnocení byly probandky rozděleny do dvou skupin, první skupinu tvořila věková skupina starší a druhou mladší než 50 let. Obě skupiny byly, co do počtu, přibližně stejně zastoupené (12/13 osob).

7.4.3 Organizace měření – doba používání gelu

Vyrobené formulace byly poskytnuty probandkám k dispozici ve formě gelu, spolu s Jarischovým roztokem k pravidelnému každodennímu používání v domácím prostředí. Před používáním byly klientky instruovány o způsobu aplikace jak gelu, tak Jarischova roztoku. Účastnicím studie bylo doporučeno nepoužívat v periorbitální oblasti žádný jiný kosmetický přípravek, nebo podstoupit během sledovaného období jakýkoliv estetický zákrok. Gel s koncentrací Argirelinu® 5 % byl určen k aplikaci na levou periorbitální oblast, 12,5% gel na oblast pravou. Jarischův roztok (koncentrace 3 %) probandky používaly na dočištění očního okolí po odličení. Vše pak bylo doporučeno používat pravidelně dvakrát denně (ráno a večer) po dobu 4 týdnů.

První měření kožního reliéfu pomocí silikonové repliky bylo provedeno před používáním kosmetické formulace. Pro všechna měření byly dodržovány konstantní podmínky okolního prostředí, teplota (21 ± 2 °C) a relativní vlhkost vzduchu (50 – 60 %). Probandky nebyly vystaveny přímému slunečnímu záření a měření probíhalo za stejných světelných podmínek. Před sejmutím repliky byly probandky ponechány v klidu minimálně 10 až 20 min, aby prokrvení pokožky a případné zvýšené pocení odpovídalo klidovému stavu.

Druhé měření bylo provedeno po ukončení domácího používání formulace, které trvalo po dobu jednoho měsíce, tj. 28-30 dnů. Po druhém měření probandky zhodnotily svoji účast ve studii v předem připraveném dotazníku (Příloha P3).

Celkem se uskutečnilo 100 měření, 25 probandům byla sejmuta replika zvlášť z pravé, zvlášť z levé periorbitální krajiny, a to před začátkem používání testovaného přípravku a po cca 4 týdnech jeho používání.

7.4.4 Úprava pleti před testem

Pokožka v periorbitální oblasti byla před sejmutím otisku očištěna od make-upu a dalších nečistot odličovačem, následně byl použit roztok kyseliny borité na dočištění a sjednocení pH pokožky. Po odsátí přebytků roztoku borové vody papírovými ubrousky a vysušení pokožky, byla následně vymezena oblast měření, kam byl nalepen oboustranný lepicí kroužek, který určuje měřenou plochu pokožky pro silikonový odlitek (Obr. 3 a, b, c, d).

7.4.5 Příprava odlitku (repliky)

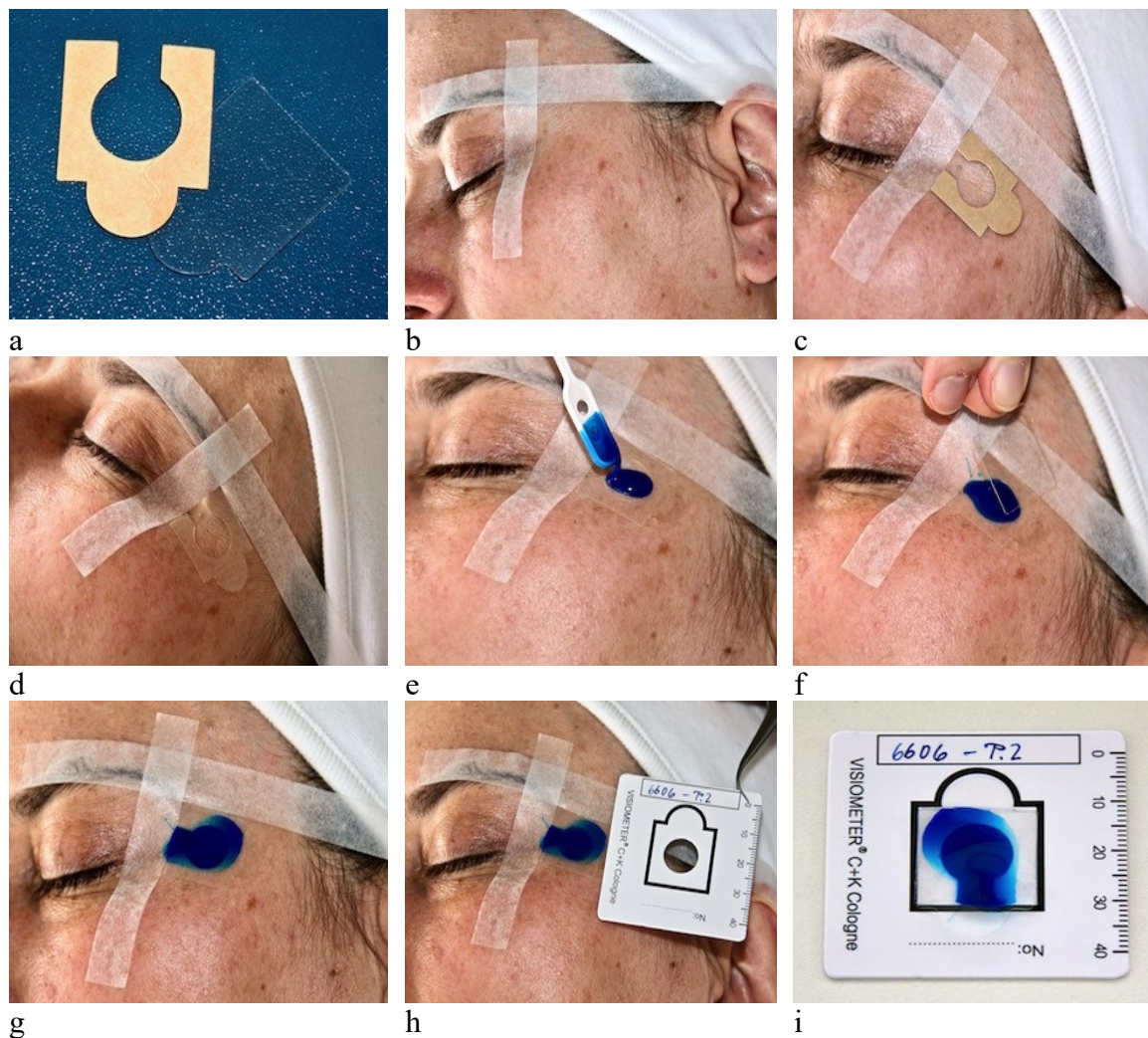
Pro výrobu silikonových replik pokožky je zapotřebí následující příslušenství:

- Oboustranně lepicí papírový kroužek – vzhledem ke své velikosti (8 mm v průměru, 350 μ m na výšku) vymezuje měřenou plochu pokožky, jeho výška určuje tloušťku replik. Otvor spodní části tohoto kroužku slouží k odtoku přebytečného silikonu, čímž je zabráněno přílišnému tlaku silikonu na kůži. Ten by mohl způsobit nežádoucí deformaci repliky (Obr. 3 a).
- Krycí fólie z čirého, pružného plastu, určena k překrytí zadní strany repliky, kterou chrání před nečistotami a prachem. Dále usnadňuje sejmutí formy s replikou z pokožky.
- Dvousložkový silikon skládající se z (B) báze a (C) katalyzátoru se stejnou barevnou intenzitou modrého pigmentu, použitý v poměru 1:1 (3+3 kapky).
- Malý plastový pohárek a tyčinka. Tento speciální pohárek je potřebný pro smíchání obou složek v podtlakovém zařízení. Při míchání je potřeba, aby bylo zamezeno tvorbě vzduchových bublin, které mohou ovlivnit některé parametry měření. Tyčinka slouží pro přenos silikonu do prostoru lepicího kroužku vymežujícího testovanou plochu pokožky.
- Speciální papírový rámeček, pomocí něhož je replika následně vkládána do přístroje.

- Míchací zařízení – vakuové čerpadlo složené z nerezové tyčinky s krytem, který je optimálně řešen pro podtlakové míchání připravené silikonové směsi. Míchací zařízení je poháněno mechanickým pedálem.

7.4.5.1 *Postup práce*

- Nejdříve byla očištěna a vymezena oblast pokožky pro měření kožního reliéfu. Pro dlouhodobé studie bylo, dle návodu, doporučeno použít voděodolné značení viditelné pouze pod ultrafialovým světlem. Tento postup se ale ukázal jako nevhodný. Díky vysoké čistící schopnosti moderních odličovacích přípravků byla trvanlivost tohoto značení pouze v rámci několika dní. Proto byla použita metoda vymezení prostoru pomocí záchytných bodů na obličejí probandek (Obr. 3b).
- Do vymezeného prostoru byl nalepen oboustranně lepící papírový kroužek - forma (Obr. 3 c, d). Následně byly pomocí ručního podtlakového míchadla smíchány obě složky modrého silikonu.
- Bezprostředně po skončení míchání byl pomocí plastové tyčinky přenesen malý objem silikonu (cca 1 – 2 kapky) do prostoru plastového kroužku formy (Obr. 3 e). Přiložením krycí fólie a vytlačněním přebývajícího silikonu ve směru k otvoru kroužku, bylo dosaženo stejně silné silikonové vrstvy u všech připravených replik (Obr. 3 f, g). Použité množství silikonu bylo malé, a nezpůsobilo proto téměř žádný zvýšený tlak na kůži; odebraná replika tedy představuje přirozený profil pokožky.
- Po 3 až 5 minutách došlo k vytvrzení silikonu, během kterých účastnice testu v klidu odpočívaly na lehátku.
- Forma se silikonovou replikou byla velmi opatrně odstraněna z pokožky, aby nedošlo k protržení silikonu a umístěna do přesně označeného prostoru na speciálním čtvercovém papírovém nosiči (Obr. 3 h, i).
- V papírovém nosiči byla pozitivní strana repliky (která byla v kontaktu s kůží) umístěna tak, aby ležela odkryta na jeho otvoru. Takto přichystaný speciální papírový nosič s replikou byl poté vložen do snímacího zařízení Visiometru tak, aby strana překrytá krycí fólií ležela ve směru průchodu paprsku ze světelného zdroje.
- Získaná data byla přenesena do počítače a obrázek uložen k dalšímu zpracování.



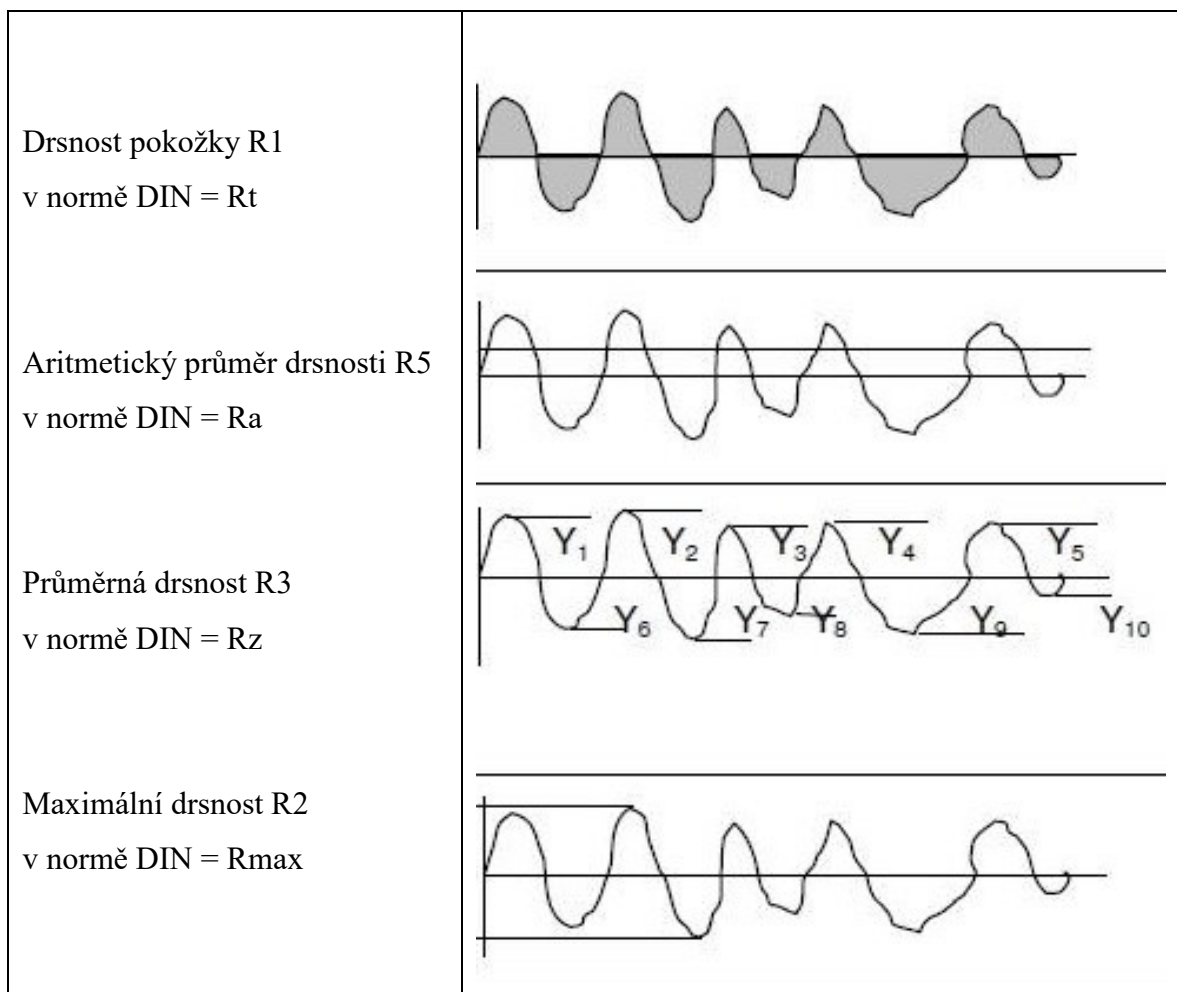
Obr. 3: Postup přípravy silikonové repliky pokožky

7.4.6 Vyhodnocení měření

Pro měření účinnosti kosmetických přípravků proti vráskám není stanovena jednotná metodika. Obdobně ani vyhodnocení a interpretace dat nejsou standardizovány.

V rámci studie účinku Argirelinu® a jeho vlivu jako kosmeceutika na pokožku, byly vyhodnocovány zejména parametry drsnosti R1, R2, R3, R4 a R5, což je v souladu s metodikou publikovanou ve studiích zabývajících se stanovením drsnosti pokožky. Byly měřeny hodnoty změny stavu pokožky před aplikací testovaných formulací, které byly srovnávány s výsledky po jejich měsíčním používání s důrazem na rozdílné koncentrace aktivní látky aplikované zvláště na pravou a levou periorbitální krajinu. V rámci studie byly rovněž srovnávány výsledky rozdílných koncentrací a jejich účinnosti na pokožku ve věkové skupině probandek nad 50 let a ve skupině mladších padesáti let.

Parametry drsnosti R1 – R5 byly původně zavedeny pro potřeby materiálového inženýrství a jsou definovány v normě DIN 4762-4768 jako Ra až Rz. Pro stanovení drsnosti pokožky jsou vyjádřeny v odstínech šedé. Na Obr. 4 jsou znázorněny parametry drsnosti pokožky. Parametr R1 vymezuje vzdálenost mezi nejvyšším vrcholem a nejnižší prohlubní (R1 drsnost pokožky) a představuje tedy průměr vzdálenosti mezi nejvyšším vrcholem a nejnižší prohlubní na měřené části pokožky vztažené k referenční délce 1. Parametr R2 (maximální drsnost), je největší lokální drsnost z hodnot drsností různých segmentů. R3 (průměrná drsnost) je stanovena jako aritmetický průměr drsnosti, počítán z pěti následných měření segmentů stejné délky. R4 (hloubka drsnosti), hloubka hladkosti (hladkost prohlubní). Tento parametr popisuje plochu nad referenčním profilem uzavřenou přímkou nejvyššího výstupku a rozdělenou střední přímkou určenou průměrnou drsností. Tato plocha je pak vztažena k délce vrásky. R5 (aritmetický průměr drsnosti) je stanoven jako průměrná odchylka skutečného profilu od průměrného profilu. Plocha ohraničená referenčním profilem a střední přímkou určenou průměrnou drsností.

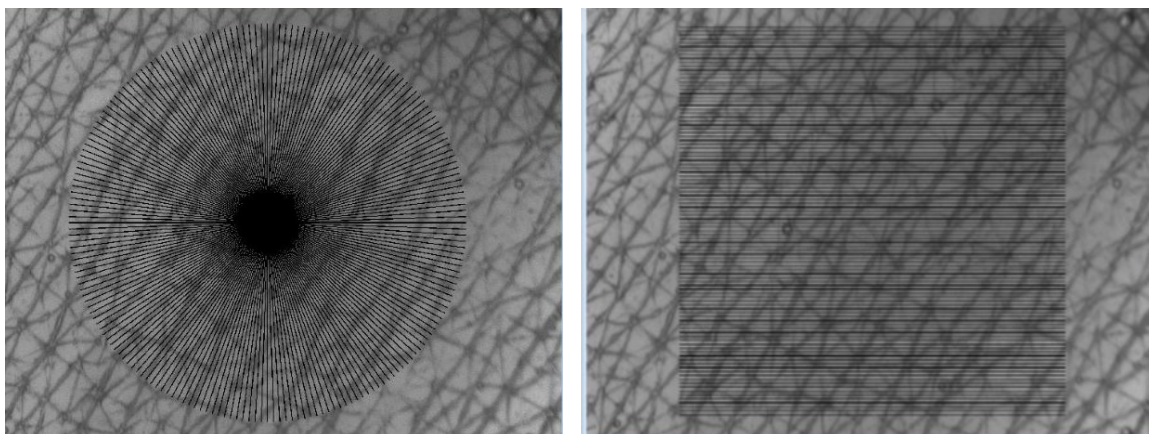


Obr. 4: Parametry drsnosti pokožky R1, R2, R3, R5 [78, upraveno]

Všechny výše definované parametry jsou výrazně závislé na zvolené oblasti výpočtů, pro získání porovnatelných výsledků byla proto na replikách sejmutých před a po používání Argirelinu® nastavena shodná výpočtová oblast. Kvantitativní poměr mezi parametry je $R1 \geq R2 \geq R3 \geq R4 \geq R5$.

Jak je již zmíněno výše, před započítáním vyhodnocování výsledků je potřeba si uvědomit, že výsledky stanovení drsnosti pokožky výrazně závisí na velikosti a rozložení plochy zvolené pro výpočet. Proto je při srovnávání replik sejmutých před a po aplikaci přípravku vždy potřeba, zvolit tuto plochu totožnou.

Při měření drsnosti pokožky pak lze předem stanovit, zda bude vyhodnocení výsledků měření vedeno v oblasti, která je stanovena horizontálně, vertikálně, či po kružnici s možností měření až ve 180 „řádcích“ (Obr. 5). Pro tuto práci byla primárně zvolena možnost kruhového uspořádání, která (dle informace dodavatele přístroje) omezuje negativní vlivy vyplývající z možných nepřesností při odběru a přenosu vzorků. Další výhodou použití kruhově uspořádaných čar (řádků) je to, že kompenzují vliv směru vrásky. Vzhledem ke skutečnosti, že tato práce si klade za cíl podívat se podrobněji na metodiku vyhodnocování, byla pro srovnání data zpracována rovněž při horizontálním proložení „řádků“.



Obr. 5: Možnosti volby oblasti na otisku kůže pro vyhodnocení drsnosti pokožky [70]

7.4.7 Další možnosti interpretace výsledků

Visiometer umožňuje i další možnosti vizualizace získaných výsledků. Zhodnocení časově závislých změn kožní topografie po aplikaci kosmetické formulace je možné provést např. pomocí parametru „Histogram“, který znázorní v libovolně zvolené oblasti křivku/peek, jako vyjádření nejvyšší a nejnižší úrovně na stupnici šedé (0 – 256), tedy nejhlubší a nejnižší vrásky.

Možné je také okamžité vytvoření trojrozměrného barevného obrazu (3D Image), které je vhodné zejména pro marketingové účely. Tento 3D obraz je sice vytvořen z omezeného počtu bodů, ale výpočet je rychlý a program je schopný poskytnout zobrazení v reálném čase.

7.4.8 Statistické zpracování dat

Parametry drsnosti R1 až R5 byly statisticky vyhodnoceny za použití programu Microsoft Office Excel. Pro každý z parametrů byl stanoven prostý průměr (Rov. 2) a směrodatná odchylka (Rov. 3).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \quad (2)$$

Rov.2: Prostý aritmetický průměr

Kde:

ncelkový počet prvků statistického souboru (měření)

x_ihodnota měření (prvek statistického souboru)

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

Rov. 3: Směrodatná odchylka

Kde:

Ncelkový počet prvků statistického souboru (měření)

x_ihodnota měření (prvek statistického souboru)

\bar{x} aritmetický průměr

Tyto statistické parametry byly vyhodnoceny pro celý soubor probandů, s vyloučením některých hodnot, která měly vždy reálný důvod. Konkrétně se jednalo o znehodnocená data, jejichž vznik byl podmíněn chybným zpracováním repliky pokožky, a to již v jeho počátku, tj. při přípravě silikonu k výrobě kožní repliky, kdy vznikaly vzduchové bublinky. Dále byly některé repliky znehodnoceny při snímání z pokožky, tedy po vytvrzení silikonu, kdy docházelo neopatrnou manipulací k roztažení silikonu. To se projevilo i při zobrazení na obrazovce počítače, kde byly tyto „roztažené části“ jasně viditelné jako hladké plochy (viz. kapitola 8.2.1 Rizikové faktory sběru dat).

Obdobným způsobem byly zhodnoceny také výsledky po rozdělení celé skupiny probandů do dvou věkových skupin, a to starší a mladší 50 let.

8 VYHODNOCENÍ A DISKUSE VÝSLEDKŮ

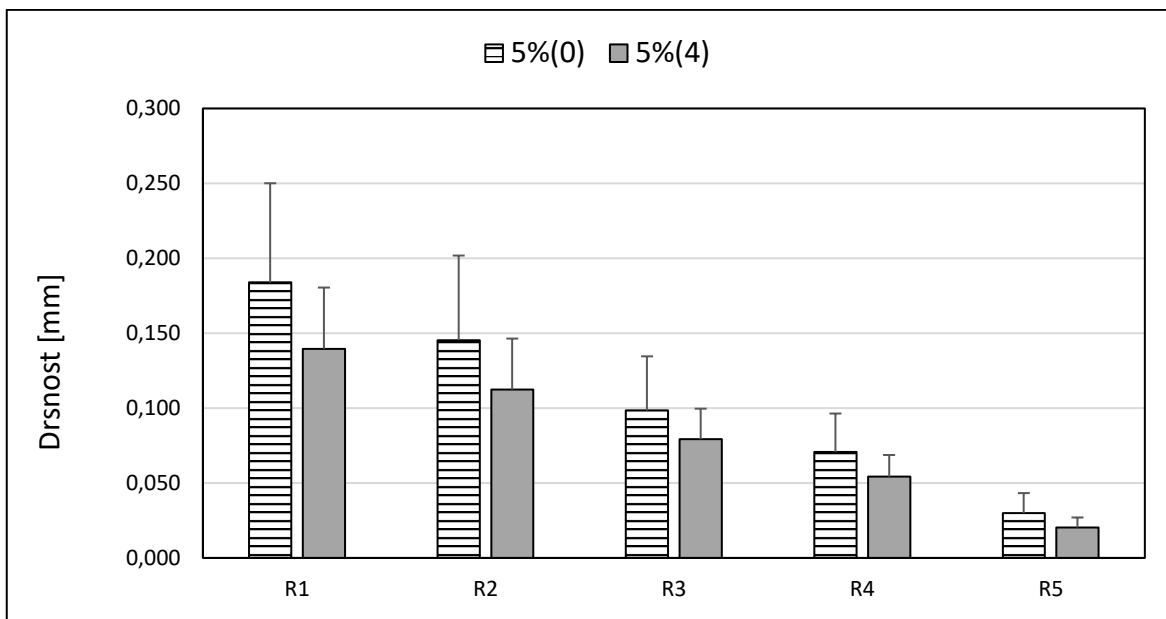
8.1 Parametry drsnosti

Tato část práce shrnuje výsledky statistického zpracování parametrů drsnosti, které odráží vliv Argirelinu® na redukci perorbitálních vrásek. Potenciál testované 5% kosmetické formulace Argirelinu® před započítáním testování této formulace (0) a po jejím čtyřtýdenním používání (4), je znázorněn v Tab. 3 a na Obr. 6. Formulace s vyšším obsahem aktivní látky (12,5 %) před započítáním testování a po čtyřtýdenním používání je pak představena v Tab. 3 a na Obr. 7. Obě formulace jsou graficky srovnány na Obr. 8.

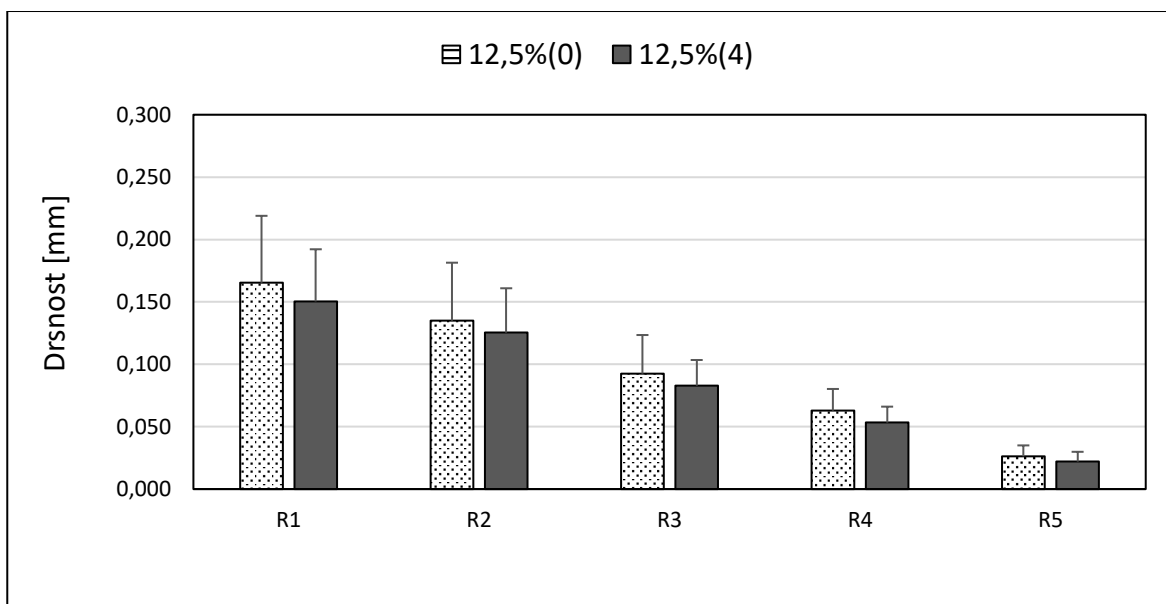
Z průměrných hodnot parametrů drsnosti znázorněných v grafech lze vyčíst, že v obou případech došlo používáním tohoto peptidu k redukci vrásek, avšak výsledky překvapivě ukázaly, že u formulace s nižším množstvím aktivní látky bylo dosaženo zřetelnějších výsledků, než u formulace 12,5 %.

Tab. 3: Průměrné hodnoty parametrů drsnosti a jejich směrodatné odchylky stanovené na začátku (0) a po 4 týdnech používání formulací s Argirelinem® o dvou různých koncentracích (n = 25)

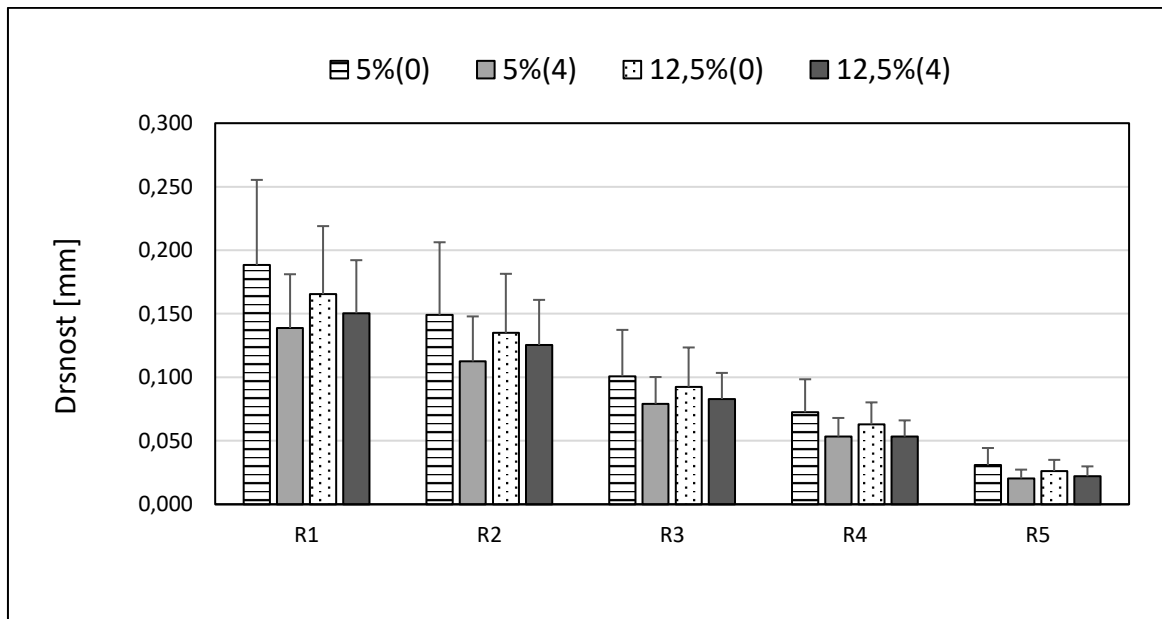
Aplikace [týdny]	R1	R2	R3	R4	R5
Koncentrace 5 %					
0	0,188±0,067	0,149±0,057	0,101±0,036	0,073±0,026	0,031±0,013
4	0,139±0,042	0,113±0,035	0,079±0,021	0,053±0,015	0,020±0,007
Koncentrace 12,5 %					
0	0,165±0,054	0,135±0,046	0,93±0,031	0,063±0,017	0,026±0,009
4	0,150±0,042	0,125±0,036	0,083±0,021	0,053±0,013	0,022±0,008



Obr. 6: Průměrné hodnoty parametrů drsnosti R1 až R5; 5 % formulace (0) před aplikací, (4) po čtyřtýdenní aplikaci



Obr. 7: Průměrné hodnoty parametrů drsnosti R1 až R5; 12,5 % formulace (0) před aplikací, (4) po čtyřtýdenní aplikaci



Obr. 8: Srovnání parametrů drsnosti R1 – R5 obou formulací před používáním a po 4 týdnech aplikace

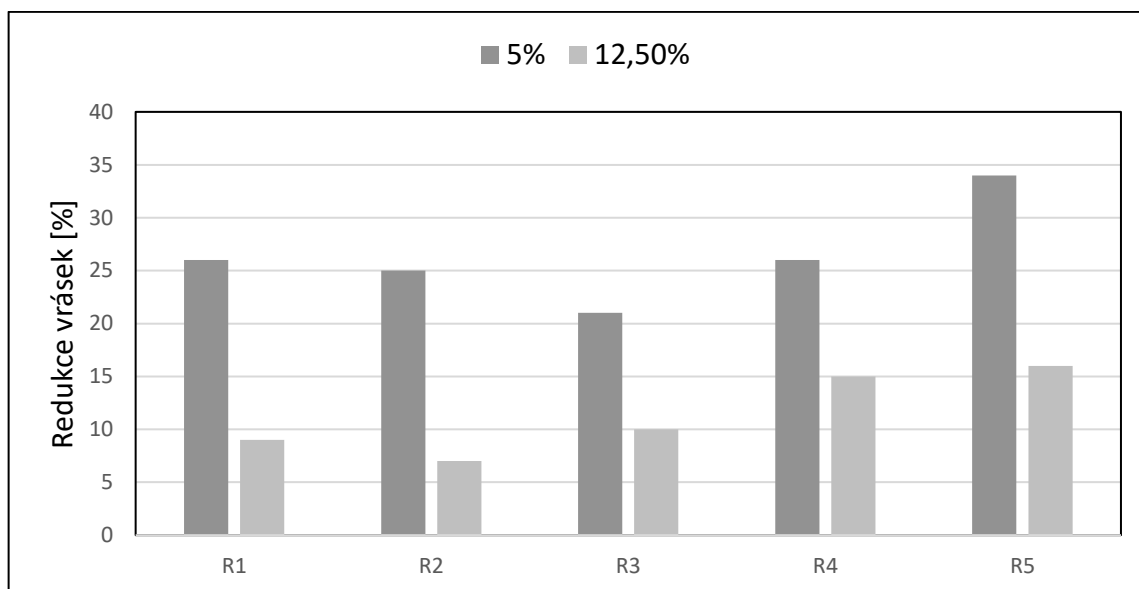
Z Obr. 6 a 7 rovněž vyplývá, že kvantitativní poměr jednotlivých parametrů drsnosti odpovídá předpokladu a jejich hodnoty klesají v pořadí $R1 \geq R2 \geq R3 \geq R4 \geq R5$. Podíváme-li se podrobněji na představené výsledky je možno dále konstatovat, že při měření parametrů drsnosti pokožky R1, tedy vzdálenosti mezi nejvyšším vrcholem a nejnižší prohlubní na měřené části pokožky, došlo k redukci drsnosti pokožky o 26 % při použití 5% Argirelinu® a o 9 % po aplikaci vyšší, tedy 12,5% koncentrace. Maximální drsnost, parametr R2, tj. největší lokální drsnost z různých segmentů měřené části pokožky vykazuje pro zmíněné formulace redukci hloubky vrásky 25 % a 7 %. Aritmetický průměr drsnosti pěti stejně dlouhých segmentů měřené části pokožky pak vykazuje zlepšení 21 % a 10 %. Hladkost prohlubní R4 udávající plochu nad referenčním profilem uzavřenou přímkou nejvyššího výstupku a rozdělenou střední přímkou určenou průměrnou drsností udává zlepšení 26 % a 15 %. U aritmetického průměru drsnosti R5, tedy plochy ohraničené referenčním profilem a střední přímkou určenou průměrnou drsností došlo k redukci hloubky vrásek v levé periorbitální oblasti, kde byla použita 5% formulace, o 34 % a v pravé periorbitální oblasti s aplikací gelu o vyšší koncentraci aktivní látky o 16 % (Tab. 4, Tab. 5, Obr. 9).

Tab.4: Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 5 % Argirelinu® v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a konečným stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %

	Δ počáteční a konečný stav	Změna parametru vzhledem k počátku [%]	Redukce vrásek [%]
R1	0,050	74	26
R2	0,037	75	25
R3	0,022	79	21
R4	0,019	74	26
R5	0,010	66	34

Tab 5: Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 12,5 % Argirelinu v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a konečným stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %

	Δ počáteční a konečný stav	Změna parametru vzhledem k počátku [%]	Redukce vrásek [%]
R1	0,015	91	9
R2	0,010	93	7
R3	0,010	90	10
R4	0,010	85	15
R5	0,004	84	16



Obr 9: Rozdíly v účinnosti (redukci vrásek) 5% a 12,5 % Argirelinu® u jednotlivých parametrů drsnosti

Při zhodnocení celkového průměru všech stanovených parametrů drsnosti R1 – R5, vypočítaného podle Rov. 2 je možné konstatovat, že při používání testovaného přípravku s Argirelinem® byla u 5% formulace toho přípravku prokázána redukce vrásek o 26,4 % a u formulace s obsahem aktivní látky 12,5 % došlo k redukci vrásek o 11,4 %.

Představené výsledky studie tedy jednoznačně prokazují pozitivní vliv Argirelinu® na zmenšení hloubky vrásek. Test však nečekaně ukázal lepší účinnosti nižší 5% koncentrace této aktivní látky ve srovnání s vyšší 12,5% koncentrací. Vysvětlení je možné hledat ve vlivu nosného vehikula, v tomto případě gelu. Při transepidermálním transportu se vstup látek přes *stratum corneum* řídí zákony difúze [73]. Mezi determinanty permeace aktivních látek kůží patří rozpustnost těchto látek ve vehikulu, která podmiňuje jeho koncentraci, rozdělovací koeficienty mezi vehikulem a kůží, mezi jednotlivými vrstvami kůže a difúzní koeficient v kožních vrstvách [74]. Co se týče rozpustnosti aktivní látky je výhodné, s ohledem na koncentrační spád, vytvořit ve vehikulu co nejvyšší (nasycenou) koncentraci. Je-li aktivní látka ve vehikulu velmi dobře rozpustná, může se tento fakt projevit při uvolňování a absorpci negativně. Při dobré rozpustnosti a tedy velké afinitě vehikulu totiž aktivní látka přestupuje neochotně do prostředí, ke kterému má menší afinitu [75].

Skutečnost, že gel není vždy zcela optimálním nosičem aktivních látek, byla uvedena také ve studii [77], kde byla srovnávána účinnost hydratačních složek zapracovaných v gelu

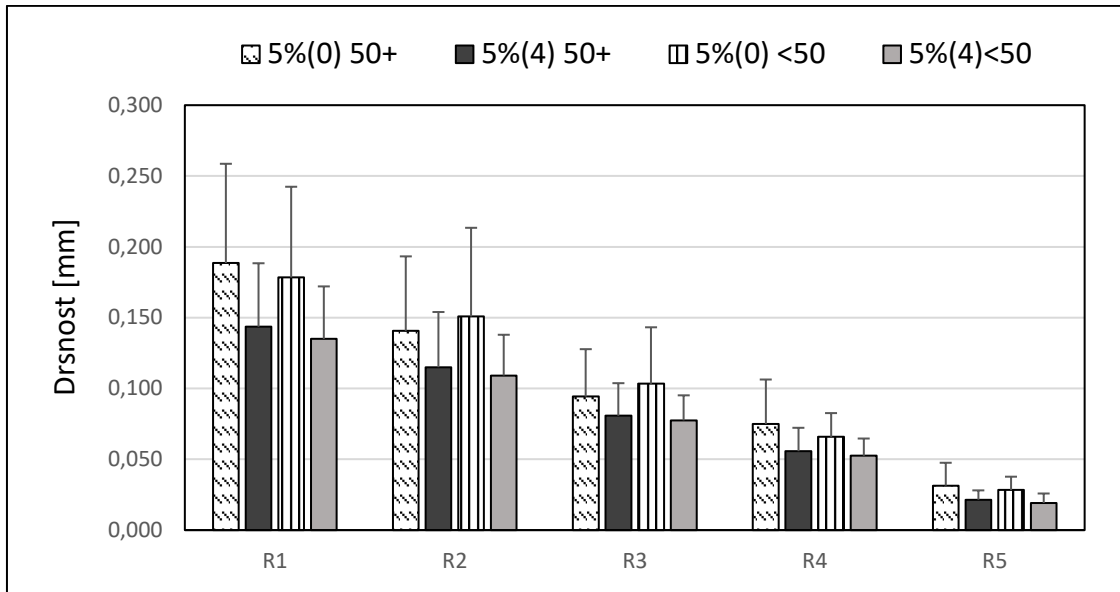
a emulzi. Výsledky této studie prokázaly, že aktivní látky začleněné do emulze hydratovaly pokožku lépe než tytéž látky obsažené v gelu. Obdobný vliv mělo vehikulum i na transepidermální ztrátu vody. Nižší účinnost aktivních látek v gelu je možno rovněž přičítat vzniku okluzivního filmu. Ten vzniká po zaschnutí karbomeru o němž je známo, že má filmotvorné vlastnosti [79].

Velmi zajímavou studii týkající se vlivu vehikula na transdermální penetraci acetylhexapeptidu publikovali Hoppel a kol. [80]. Experiment byl proveden ve Franzových komůrkách na prasečí kůži. Byly testovány emulze voda v oleji, olej ve vodě i několikanásobná emulze voda-olej-voda. Studie prokázala, že emulze voda-olej-voda významně zvyšuje průnik peptidu do kůže ve srovnání s oběma jednoduchými emulzemi a lze tedy předpokládat, že bude kosmeticky účinnější.

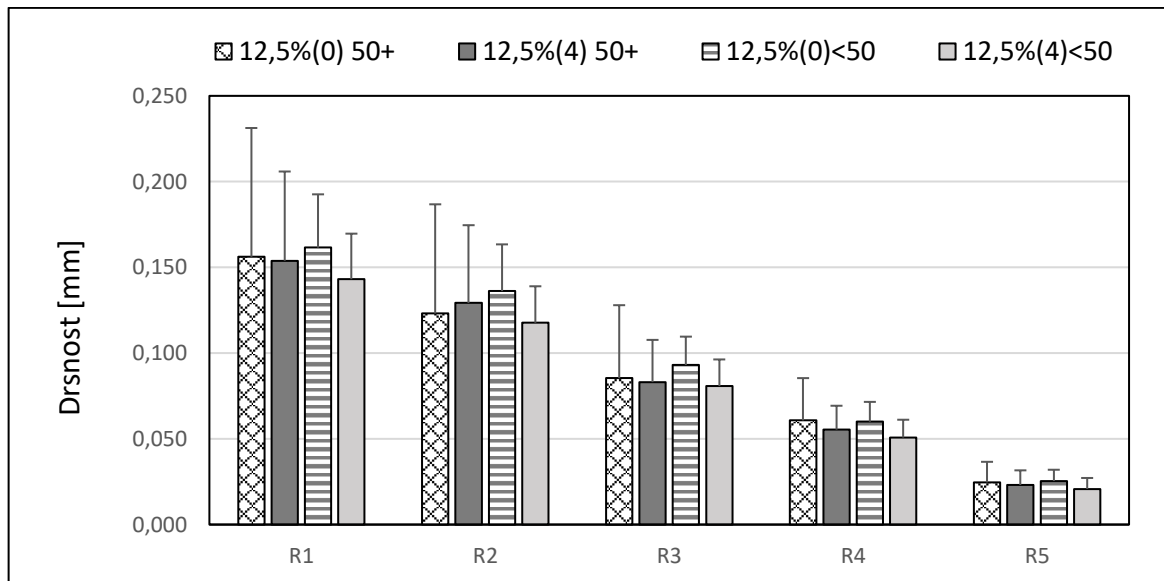
Z výše uvedených informací je zřejmé, že i když odborné studie potvrzují účinnost Argirelinu pro vráskám ve všech vehikulech, vliv samotného vehikula zde nelze opomíjet.

8.1.1 Srovnání působení Argirelinu ve věkových skupinách

I když naměřené rozdíly s ohledem na věk probandek nebyly výrazné, přesto bylo provedeno zhodnocení výsledků testů zvlášť pro skupinu účastnic mladších a starších 50 let. Důvodem byla skutečnost, že u starších žen mohou kvalitu a chování pleti výrazně ovlivňovat procesy vedoucí ke změně struktury pokožky zapříčiněné např. menopausou. Kosmetická formulace s Argirelinem® se projevila u věkové kategorie nad padesát let s obdobným účinkem jako u věkové kategorie do padesáti let. I když lze v některých případech pozorovat mírné rozdíly, žádný z nich nebyl statisticky průkazný. Formulace s obsahem 5 % aktivní látky byla opět u obou věkových kategorií účinnější a snižovala hloubku vrásek v periorbitální krajině více (Obr. 10), než formulace s 12,5% (Obr. 11). Zde se projevuje již zmíněná větší afinita aktivní látky k vehikulu, čímž dochází v menší míře k difuzi přes *stratum corneum*, tedy k menší účinnosti této kosmetické formulace.



Obr. 10: Srovnání účinku formulace s 5 % Argirelinu® v kosmetické formulaci u věkové kategorie do 50 a nad 50 let. Před používáním (0), po čtyřtýdenním používání (4)



Obr. 11: Srovnání účinku formulace s 12,5 % Argirelinu® v kosmetické formulaci u věkové kategorie do 50 a nad 50 let. Před používáním (0), po čtyřtýdenním používání (4)

8.1.2 Srovnání metod vyhodnocení

Výsledky uvedené v předcházející části práce byly získány vyhodnocením dat získaných z „kruhového“ vymezení oblasti výpočtu na záznamu repliky. Tento způsob, podle informace dodavatele přístroje, kompenzuje vliv směru vrásky ve vymezené oblasti výpočtu, která je částí obrazu použitého pro měření, a také omezuje negativní vlivy vyplývající z možných nepřesností při odběru a přenosu vzorků. Jelikož jedním z cílů práce je i zhodnocení používané metodiky zpracování dat, byly parametry drsnosti stanoveny také na replikách, kde byla oblast výpočtu zvolena „horizontálně“. Kromě rozdílného způsobu vymezení plochy výpočtu byly parametry drsnosti R1 až R5 vypočítány stejně jako v předcházející kapitole, stejný byl i postup zhodnocení redukce vrásek. Výsledky z tohoto vyhodnocení jsou uvedeny v Tab. 6 a 7.

Ze srovnání údajů uvedených v Tab. 4, 5, 6 a 7 je zřejmé, že obě metody vyhodnocení shodně ukazují lepší účinnost formulace 5% Argirelinu® ve srovnání s formulací obsahující jeho koncentraci 12,5 %. Při bližším srovnání jednotlivých parametrů jsou patrné menší rozdíly. Výsledky získané z proložení „horizontální“ plochou ukazují proti výsledkům z „kruhového“ proložení menší celkové zlepšení, a to celkem 21,2 % (pro 5% koncentraci Argirelinu®) oproti 26,4 % z „kruhové“ oblasti. Pro vyšší koncentraci proteinu ve formulaci pak zlepšení stanovené z „horizontální“ plochy činilo 13,4 % oproti 11,4 % stanoveným z oblasti „kruhové“. Je tedy zřejmé, že i když trendy v chování formulací jsou obdobné, bude při zpracování výsledků potřeba kriticky zhodnotit metody „volby oblasti“ a brát v úvahu různé. Výsledné hodnoty drsnosti závisí také na velikosti oblasti výpočtu, která může být nastavena dle potřeb studie s tím, že pro porovnání všech snímků lze použít pouze přesně vymezenou část obrazu použitého pro měření.

V diplomové práci budou primárně uvažovány výsledky z „kruhového“ proložení, které jsou doporučovány výrobcem přístroje, a které mohou být následně porovnatelné s dalšími studiemi.

Tab.6: Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 5 % Argirelinu v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a konečným stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %: oblast výpočtu - horizontální

	Δ počáteční a konečný stav	Změna parametru vzhledem k počátku [%]	Redukce vrásek [%]
R1	0,047	81	19
R2	0,036	80	20
R3	0,025	80	20
R4	0,017	81	19
R5	0,010	72	28

Tab 7: Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 12,5 % Argirelinu v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a konečným stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %: oblast výpočtu - horizontální

	Δ počáteční a konečný stav	Změna parametru vzhledem k počátku [%]	Redukce vrásek [%]
R1	0,027	88	12
R2	0,013	92	8
R3	0,015	91	9
R4	0,010	82	18
R5	0,006	80	20

8.1.3 Srovnání s publikovanými studii

Porovnáním nejčastěji uváděných odborných studií s výsledky získanými v této diplomové práci je možné konstatovat, že došlo k potvrzení účinnosti testovaného hexapeptidu-3 s komerčním názvem Argireline® při redukci vrásek. Formulace s obsahem 5 % Argirelinu® testovaná v této práci vykazala průměrné zlepšení parametrů drsnosti o 26,4 % u 25 testovaných žen, používajících tuto formulaci po dobu 4 týdnů dvakrát denně na oblast periorbitálních vrásek. Srovnatelné výsledky jsou publikovány v otevřené studii provedené u 10 žen, kdy byl krém s 5% hexapeptidem-3 aplikován dvakrát denně. Po jeho 30-ti denním užívání došlo k 27% zmenšení hloubky vrásek kolem očí, což bylo měřeno analýzou silikonových replik pokožky [76]. Dále popisuje Blanes-Mira studii kontrolovanou placebem, ve které byl testován hexapeptid-3 v 10% koncentraci a 10 žen používalo krém s jeho obsahem po dobu

30 dní. Plochy kůže ošetřené hexapeptidem ukázaly 30% zlepšení vrásek v oblasti očí [69]. V další, randomizované studii provedené u 60 dobrovolníků s různým stupněm periorbitálních vrásek, byla hloubka vrásek snížena o 48,9 %, při použití 10% hexapeptidu v emulzi olej-voda. Snímané silikonové repliky kůže byly zpracovány konfokální laserovou skenovací mikroskopií a poté byly příslušné parametry drsnosti analyzovány pomocí statistické analýzy [62]. Naše 12,5% formulace s naměřeným průměrným 11,4% zlepšením, nevykázala předpokládaný, tj. lepší účinek než koncentrace 5 %, což bylo zřejmě způsobeno zvoleným gelovým vehikulem (viz. Kapitola 8.1). Lze ale předpokládat, že kdyby bylo použito vehikulum typu emulze O/V, jako u studie se 60 dobrovolníky [62], bylo by zřejmě dosaženo srovnatelných výsledků s publikovanými studiemi.

V souvislosti s použitím Argirelinu® v běžně dostupných komerčních přípravcích je zajímavé poznamenat, že jeho koncentrace není zpravidla uvedena. Jako příklad mohou sloužit následující kosmetické přípravky:

- PeptideAge 45+ Serum, 15 ml (Age Defence), % neuvedeno;
- LeChaton pleťové sérum s Argireline 15 g (kosmetika CAPRI), doporučeno používat pod denní krém, zvláště okolo očí a rtů; % neuvedeno
- Skin Rescue – Pure Hyaluron Argireline Peptide Creme Instant Fix Lift Gesicht Anti-Ageing 100 ml, % neuvedeno;
- Mesosystem - MCCM – Argireline 30 (MCCM Medical Cosmetics), % neuvedeno.

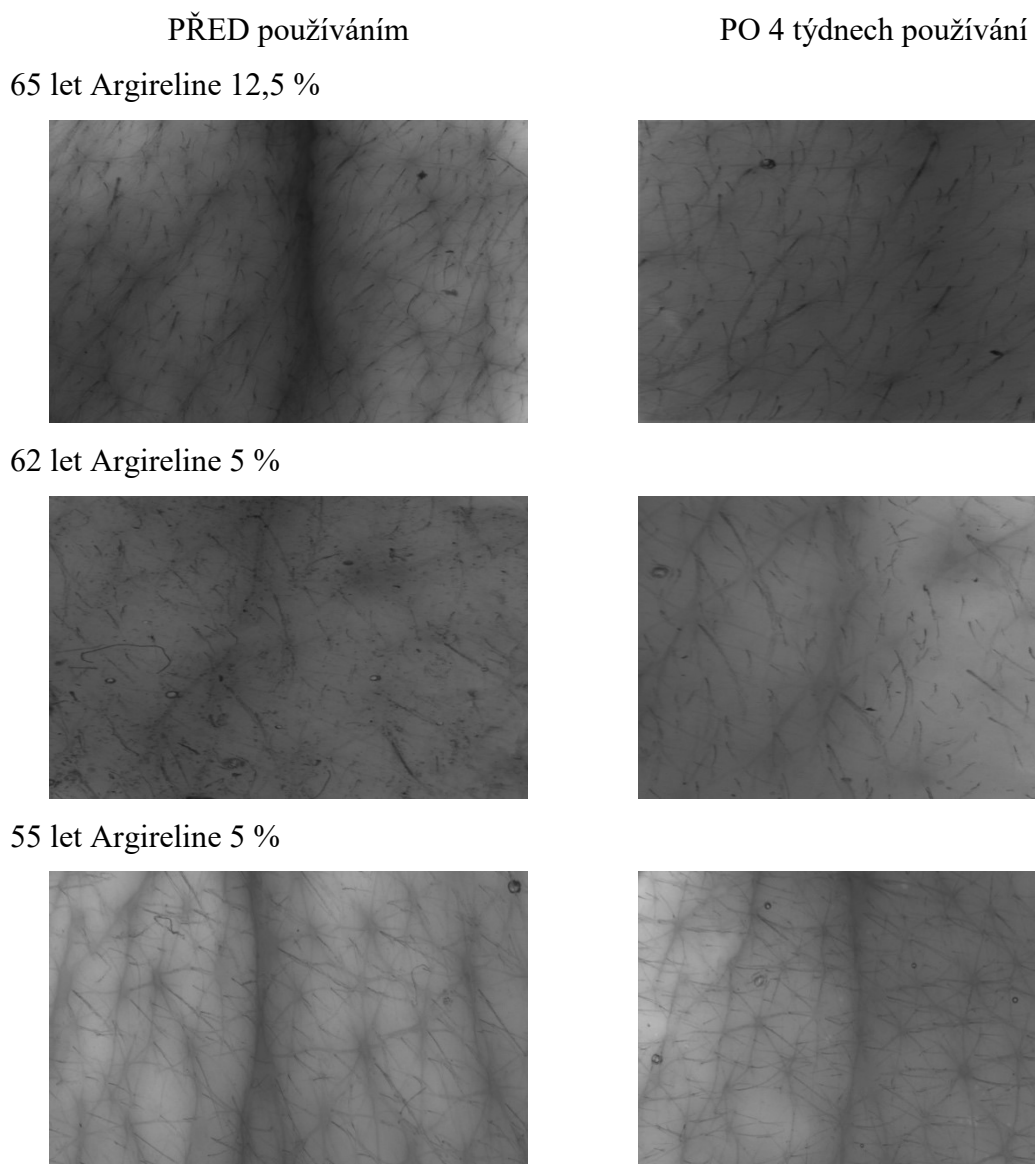
Argireline® je ochranná známka společnosti Lipotec SAU se sídlem v Barceloně, která mimo jiné produkuje do komerční sítě Lehké sérum s 10% komplexem Argirelinu® (30 ml) pod značkou The Ordinary, s doporučením aplikovat několik kapek na čelo a kolem očí dvakrát denně. Tento přípravek je na vodné bázi s vyloučením olejů, esterů a silikonů. V poznámce výrobce udává, že obsah vody v přípravcích ovlivňuje užitnou hodnotu lokálního podání Argirelinu®, a že vyšší obsah vody má za následek jeho lepší využití (informace z příbalového letáku produktu).

Jako novinka roku 2019 bylo uvedeno na trh Double Active Facial Serum s 10 % Argirelinu® a 5 % kyseliny hyaluronové distribuované SerumLab Skincare a Cosmetics International LLC (USA). U dalších běžně dostupných přípravků, a to např. od firmy Syncare, Der-

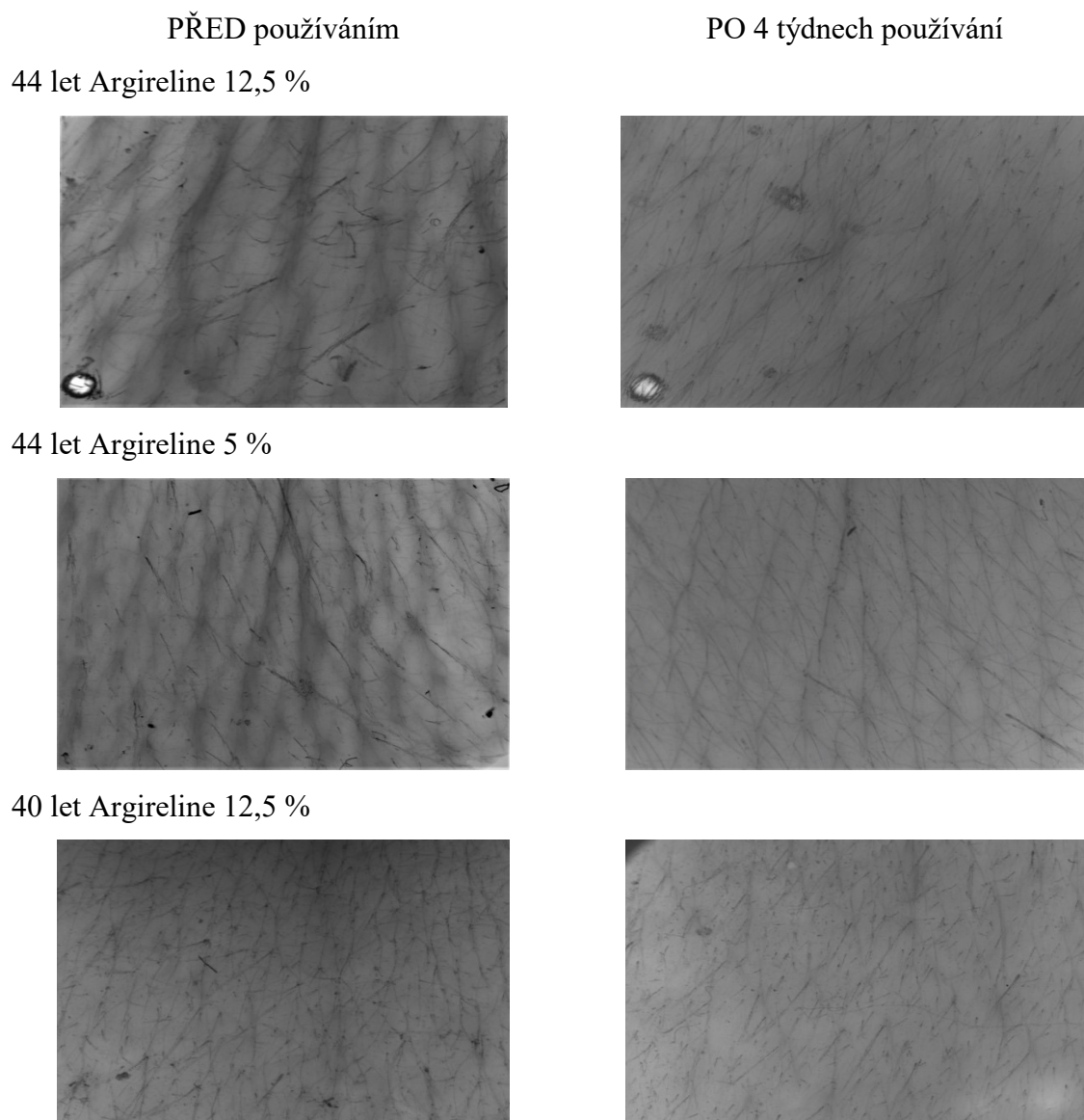
mabotexin BB denní krém 30 ml výrobce udává 13% koncentraci Argirelinu®, Dermabotexin sérum 18 % (15 ml), což je přípravek určený pro vstupní intenzivní kúru proti vráskám v kosmetickém salonu. Přípravek Advanced Essentials – Premium Anti-aging serum with Argireline uvádí na svém výrobku 20% koncentraci Argirelinu®. Hexapeptid-3 se v nejnovějších produktech anti-aging péče o pleť objevuje spolu s dalšími významnými kosmeceutiky, a to společně s kyselinou hyaluronovou či Matrixylem™3000, zejména ve formě koncentrovaných sér.

8.2 Vytvořený obraz z kožní repliky

Studie zdokumentovala vzhled pokožky snímáním obrazu z repliky kůže, průchodem světla silikonovou replikou pokožky (viz. kapitola 7.4.1 Princip měření). Vizualizace absorpce světla se promítla na monitoru počítače, struktura povrchu kůže byla zobrazena podle jeho výšky a hloubky, byly znázorněny vrásky, rýhy a prohlubně kožního povrchu v odstínech šedé. Na pořízených snímcích (Obr. 12, 13), které srovnávají vymezený úsek pokožky před a po aplikaci studovaných formulací lze vidět, že u sledovaného místa kůže probandů prokazatelně došlo ke zlepšení při použití obou zkoumaných koncentrací Argirelinu®. Na snímcích je patrné zmenšení vrásek, což je prezentováno snížením intenzity stínu. Je také zřejmé, že došlo rovněž k vyhlazení textury pokožky, což prezentuje snížení počtu linek a zjemnění prohlubní.



Obr 12: Snímky vymezené plochy kožního povrchu v oblasti periorbitálních vrásek získané před započatím používání připravené kosmetické formulace s Argirelinem® a po jeho 4 týdenním používání ve věkové skupině 50+



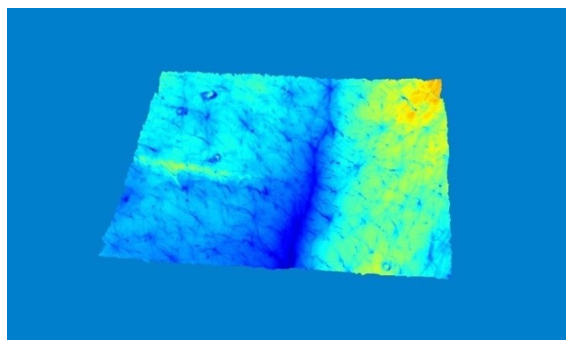
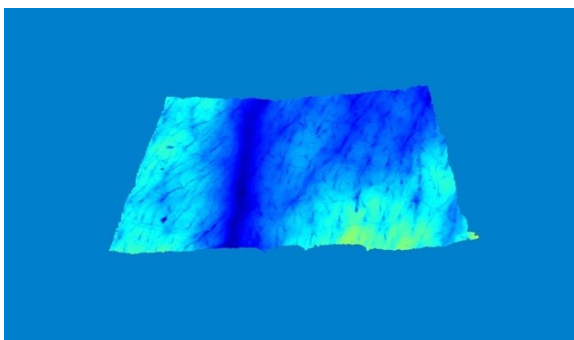
Obr. 13: Snímky vymezené plochy kožního povrchu v oblasti periorbitálních vrásek získané před započítím používání připravené kosmetické formulace s Argirelinem a po jeho 4 týdenním používání ve věkové skupině mladších 50 let

CCD snímač (součást Skin Visiometru®) využívá fyzikálního jevu známého jako fotoefekt, což lze jednoduše popsat jako přeměnu části optického záření na elektrický signál, tj. schopnost převádět dopadající světlo na velikost náboje. Tato citlivá technika umožňuje také snímání 3D obrazů, což můžeme využít v rámci této studie k vizualizaci rozdílů měřené hloubky kožní vrásky a změn kožního povrchu před používáním zkoumané formulace s Argirelinem® a po jeho čtyřtýdenním používání (Obr. 14).

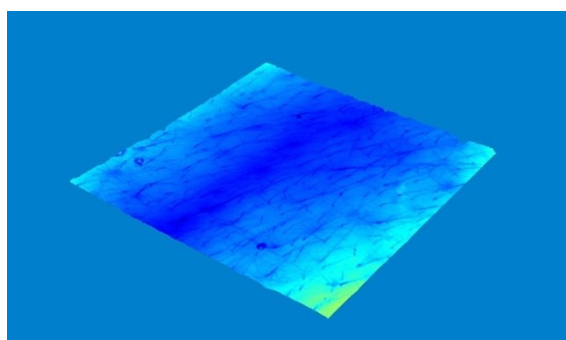
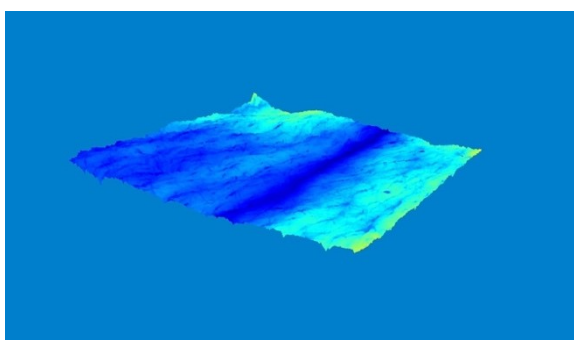
PŘED používáním

PO 4 týdnech používání

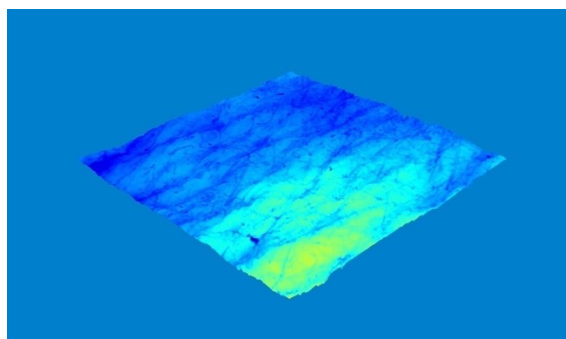
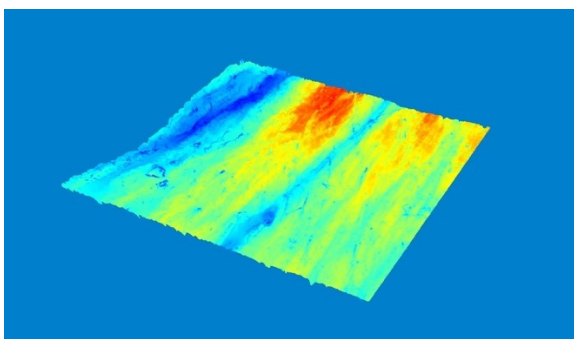
65 let Argireline 5 %



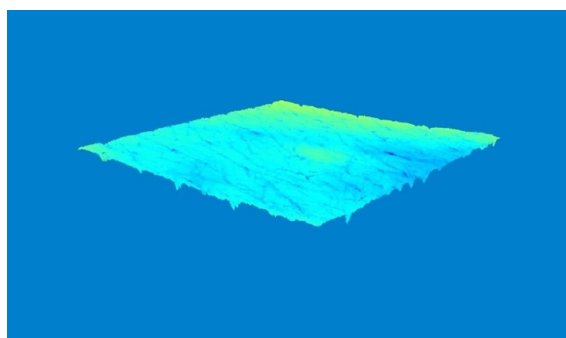
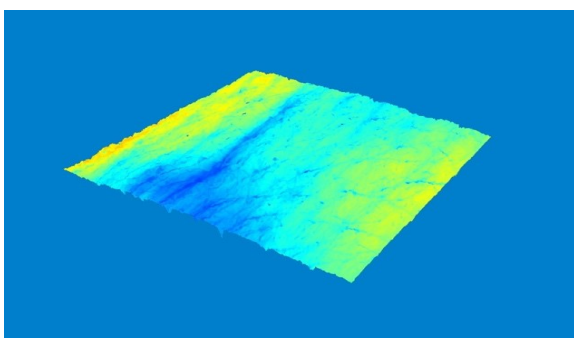
65 let Argireline 12,5 %



58 let Argireline 12,5 %



46 let Argireline 12,5 %



Obr. 14: 3D snímek repliky kožního povrchu před používáním formulace s Argirelinem® a po jeho 4 týdenním používání

8.3 Rizikové faktory sběru dat

Sběr dat byl důležitou náplní této práce, jehož klíčovou a nejnáročnější částí bylo získání silikonových replik pokožky. I při dodržování všech zásad správného postupu výroby docházelo v jeho průběhu ke vzniku defektních replik, a to z více příčin. Nejproblematičtější bylo vytvoření repliky bez vzniku vzduchových bublin, které by mohly negativně ovlivnit výsledky měření. Dalším faktorem byl vznik hladkých ploch na replice, které patrně vznikaly při neopatrném, rychlém, či nešetrném snímání (již vytvrzeného silikonu umístěného v papírové formě) z pokožky. Nedostatečné odlišení/očištění zkoumané části pokožky se projevilo černým zbarvením na vytvořeném snímku při jeho projekci na obrazovce počítače a replika se musela zhotovit opakovaně.

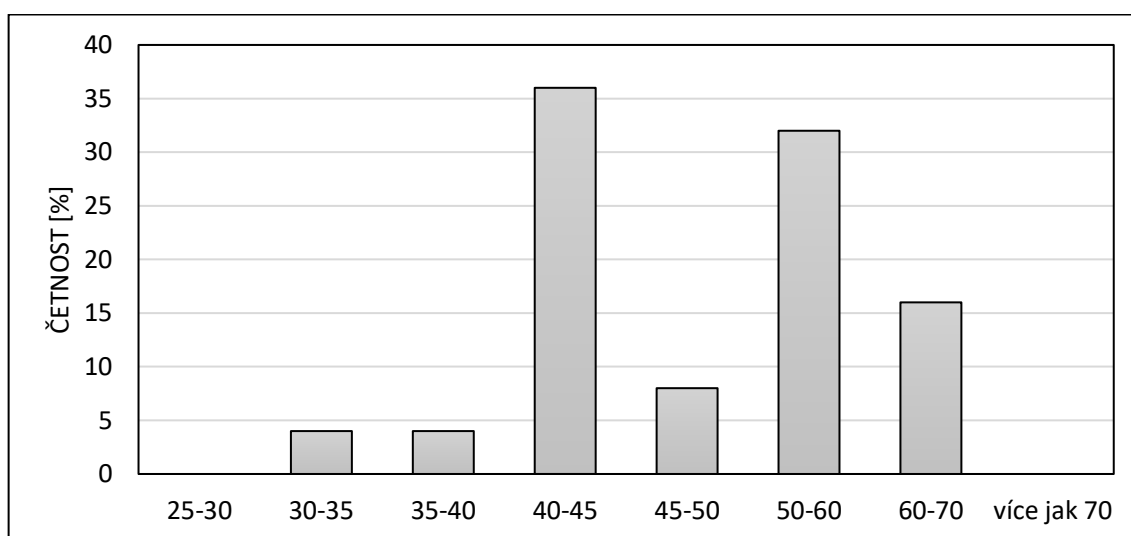
Dalším faktorem, který by neměl být při provádění dalších studií opomíjen je, že periorbitální oblasti v podkoží vévodí kruhový sval oční (*Musculus orbicularis oculi*), plochý sval ve víčkách a v okolí očí, který patří k mimickým svalům. Funkcí tohoto svalu je sevření a mrkání víček, zavírá oční štěrbinu a patří k svalům, které reagují na vnější i vnitřní podněty. Psychický i fyzický stav testované osoby může mít tedy přímý vliv i na kvalitu snímané repliky pokožky. Toto jsou základní limity použité metody, které mohou ovlivnit výsledky měření. Z celkového počtu 120 vytvořených replik bylo proto možno použít pro vyhodnocení studie 100 kvalitních vzorků.

Po kritickém zhodnocení kvality replik lze konstatovat, že absence účinnosti studovaného syntetického hexapeptidu, jsou prokazatelně zapříčiněny ve čtyřech případech významnými stresovými a environmentálními vlivy, jedna probandka podstoupila estetický zákrok (pokožka se olupovala). U dvou probandek měla dobrý účinek koncentrace 5 %, ale vyšší koncentrace aktivní látky nevykázala žádné zlepšení. Vzhledem k tomu, že tato situace nastala u dvou nejmladších účastnic studie (35 a 40 let), je možné se domnívat, že vysoká koncentrace účinné látky s významnou afinitou k vehikulu u mladé pleti nemá schopnost difuze do nižších vrstev pokožky, což odpovídá i primární bariérové funkci pokožky, které je u takto mladých žen plně funkční, tzn. bez poškození.

8.4 Dotazníkové šetření

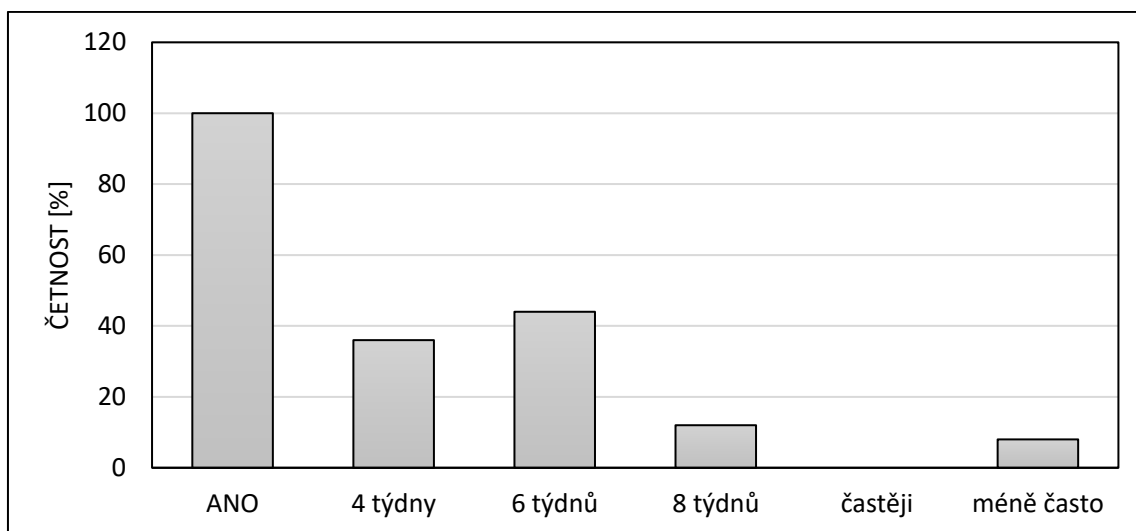
Součástí studie bylo také dotazníkové šetření. Pomocí dotazníku (Příloha P3) bylo zjišťováno, jaké problémy s pleť se vyskytují u dotázaných žen, jestli jejich pleť reaguje negativně na vnější podněty, v jaké míře jsou vystaveny stresu a co charakterizuje jejich pracovní prostředí. Protože byl testován přípravek zařazený do kategorie kosmeceutik, jež by mohl být v rámci kosmetického ošetření aplikován pro podobné účinky jako botulotoxin, byla zařazena také otázka týkající se aplikace tohoto toxinu do obličejových vrásek. Dotazník poté obsahoval otázky týkající se subjektivně pozorovaných účinků testované formulace s Argirelinem®. Respondentky byly dotazovány, zda již měly zkušenost s touto látkou, ať už během kosmetického ošetření, nebo domácí péče a v jaké formě kosmetického výrobku se s Argirelinem® setkaly. Mohly také předat zkušenosti s případnými negativními účinky této testované formulace s vyjádřením, zda by po této studii zařadily do svého denního rituálu péče o pleť kosmetický přípravek s Argirelinem®. Respondenty dotazníku byly dobrovolnice účastnící se studie k této diplomové práci.

V rámci zpracování diplomové práce bylo distribuováno 25 dotazníků, z nichž všech 25 bylo vráceno. Dotazník vyplňovaly výhradně ženy. Z celkového počtu respondentů byla 4 % žen ve věkové kategorii 30 – 35 let, ve věkové skupině 35 – 40 let také 4 %, ve skupině 40 – 45 let 36 %, 45 – 50 let 8 %, 50 – 60 let 32 % a poslední skupinu v rozmezí 60 až 70 let tvořilo 16 % respondentek. Ženy ve věku více než 70 let nebyly zastoupeny (Obr. 15). Klíčové odpovědi respondentek jsou v grafické podobě zpracovány a diskutovány dále v textu.



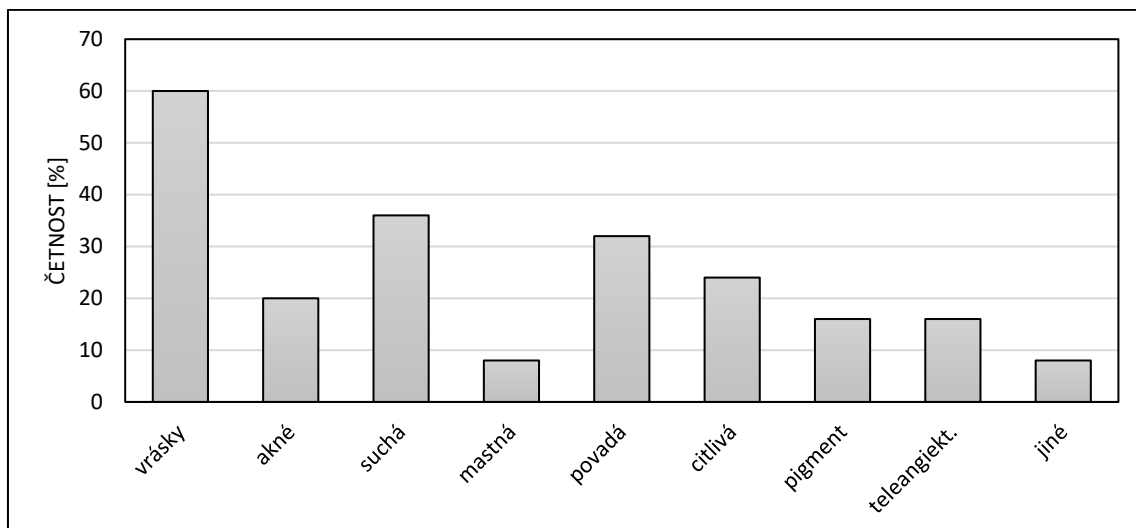
Obr. 15: Věkové rozmezí oslovených respondentek v dotazníkovém šetření

Součástí dotazníku byla otázka, zda respondentka chodí pravidelně na kosmetické ošetření. Po vyhodnocení dotazu bylo zjištěno, že z celkového množství 25 respondentů, navštěvuje pravidelně 100 % žen kosmetické ošetření. Z toho 36 % jednou za 4 týdny, 44 % jednou za 6 týdnů, 12 % jedenkrát za 8 týdnů a 8 % méně často, ale alespoň čtyřikrát ročně (Obr. 16).



Obr. 16: Četnost návštěv kosmetického ošetření (jednou za 4, 6, 8 týdnů, častěji, méně často-alespoň 4 krát ročně)

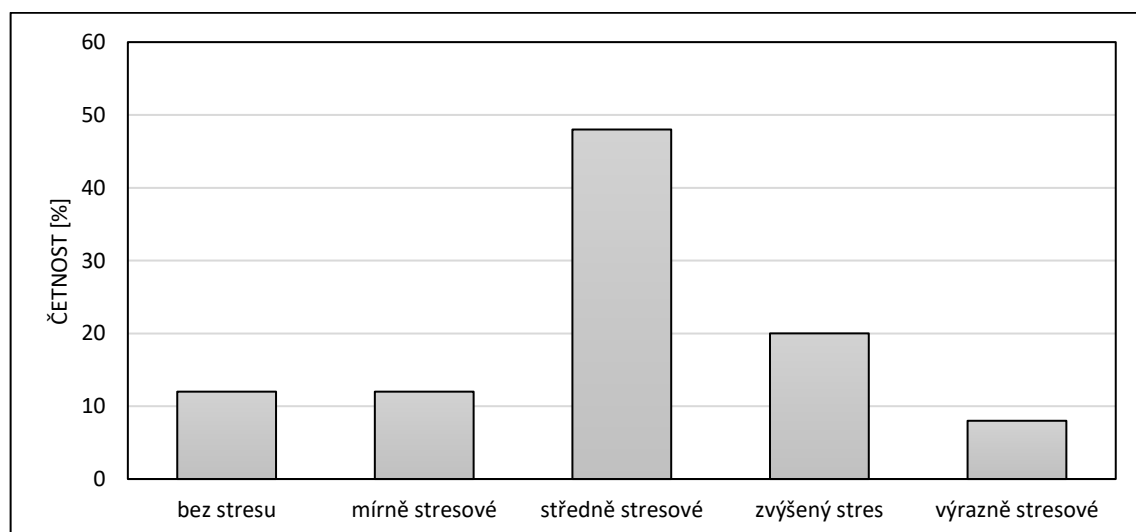
V dotazníku byla dále položena otázka, jaké problémy v souvislosti s pleť trápí dotazované nejvíce. Důvodem zařazení tohoto dotazu byla snaha o zjištění nejvíce artikulovaných problémů s pleť vnímaných respondenty. Ve výsledku 60 % žen vnímá jako svůj stěžejní problém vrásky, 20 % akné, 36 % suchou pleť, 8 % pleť mastnou, 32 % pleť povadlou, 24 % citlivou pleť, 16 % hyperpigmentace, 16 % teleangiektázie (trvalé rozšíření kapilár viditelných v kůži v podobě červených nitek) a 8 % uvádí jiné potíže, např. černé tečky na nose (Obr. 17).



Obr. 17: Problémy uvedené v souvislosti s pletí, které trápí oslovené ženy

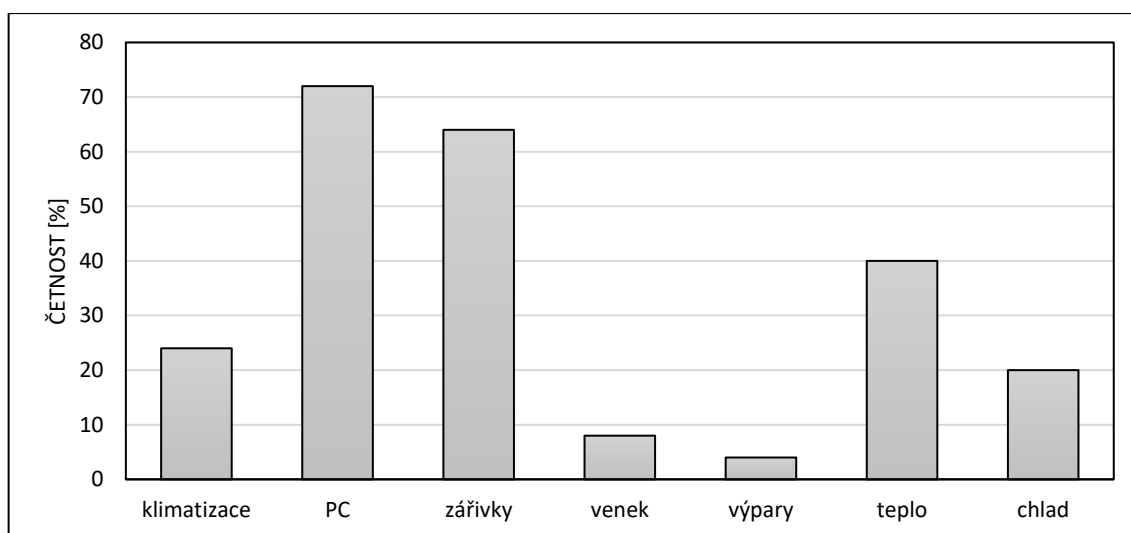
Další otázka se týkala odezvy pleti na kosmetické výrobky. Zde 56 % respondentek uvedlo, že jejich pleť nereaguje citlivě, pleť 40% žen pak reagovala citlivě jen někdy a 4 % reagují vždy. Na otázku, jakou má pleť mikrocirkulaci (stav drobných krevních cév v oblasti obličeje) odpovědělo 64 % žen, že je jejich pleť normální, žádná respondentka neuvedla, že by její pleť byla bledá a 28 % pociťuje začervenání. Za kuřačku se označilo 12 % žen.

Při hodnocení vnímání stresu v práci či doma, obodované na stupnici 1 = bez stresu až 5 = výrazné stresové zatížení, označilo jako stupeň 1, tj. bez stresu 12 % žen, mírně stresovou zátěž uvedlo 12 %, středně stresové zatížení 48 %, zvýšený stres vykazuje 20 %, výrazné stresové zatížení uvedlo 8 % dotazovaných (Obr. 18).



Obr. 18: Hodnocení vystavení respondentů stresu

U otázky týkající se charakterizace pracovního prostředí bylo možno označit více variant. Z celkového počtu odpovědí 58, označilo 24 % jako charakteristické pobyt v klimatizovaném prostředí, u 72 % to byla práce s počítačem, 64 % pak pracuje pod zářivkami, 8 % uvedlo pobyt ve venkovním prostředí, 4 % se pohybuje v prostředí, kde jsou výpary, 40 % teplo a 20 % pobývá během své pracovní činnosti v chladu (Obr. 19)



Obr. 19: Charakteristika pracovního prostředí

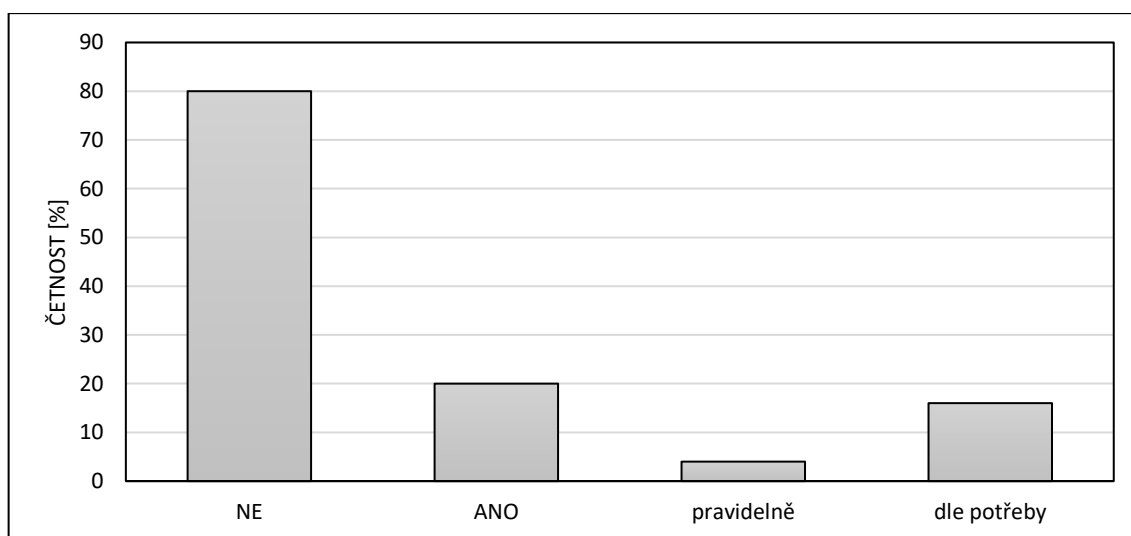
Vzhledem ke stále oblíbenosti solárií byla do dotazníku zařazena také otázka, zda respondent navštěvuje solárium, 4 % uvedlo kladnou odpověď, tato odpověď byla zařazena také u četnosti návštěv tohoto zařízení, a to pravidelně (minimálně 6 x ročně), stálým zákazníkem tohoto zařízení (1 a vícekrát měsíčně) není žádný oslovený respondent.

Jelikož v dnešní době trpí stále více lidí nejrůznějšími projevy přecitlivělosti a alergickými reakcemi, také na kosmetické prostředky, byla tato otázka zařazena do dotazníkového šetření, 12 % respondentek uvedlo, že mělo alergickou reakci na některou látku vyskytující se v kosmetických výrobcích, 68 % bylo bez projevů a 20 % uvedlo, že neví o konkrétní látce, ale po některých produktech mívá reakce na pokožce.

Další klíčová otázka v dotazníku se týkala kosmetického ošetření, a to zda dotazované ženě byl již někdy v rámci profesionálního ošetření aplikován Argireline®. 36 % účastnic uvedlo, že jim byl Argirelin® již aplikován, 48% aplikován nebyl a 16 % nevědělo. Při odpovědi ano pak byl Argireline® 24% žen aplikován ve formě masky, 36% ve formě ampule, zcela

chyběla aplikace ve formě krému. V domácím prostředí pak používá kosmetické přípravky s Argirelinem® 8 % žen oslovených v tomto dotazníkovém šetření.

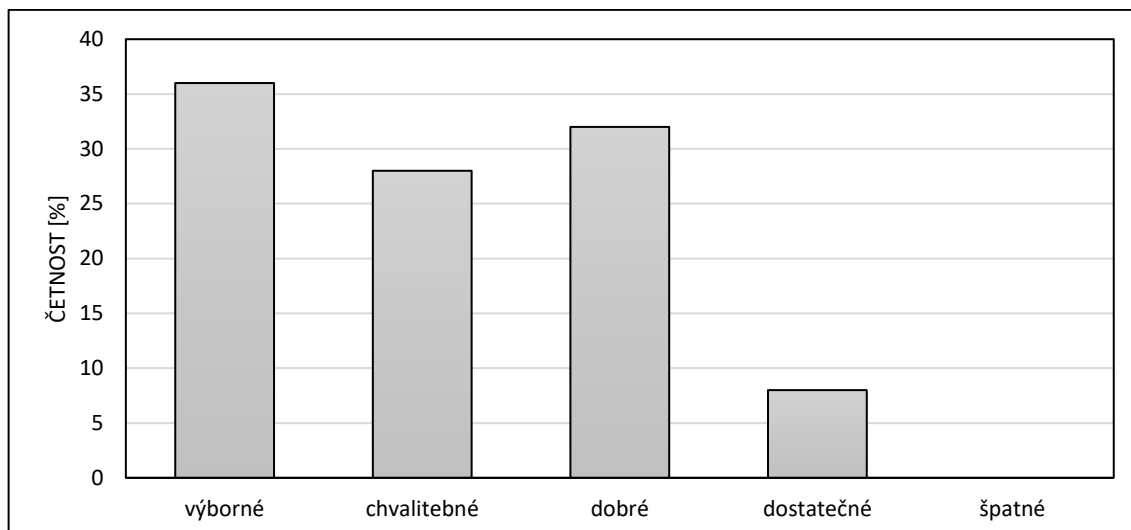
Botulotoxin si do obličejových vrásek nechává aplikovat 20 % respondentů, z toho 4 % chodí pravidelně (několikrát do roka), 16 % si nechává botulotoxin aplikovat dle potřeby (alespoň jednou ročně), nikdo neuvedl, že by absolvoval injekci botulotoxinu v nedávné době (ne více než před dvěma měsíci).



Obr. 20: Odpovědi na otázku, zda byla někdy aplikována injekce botulotoxinu do obličejových vrásek

Velice zajímavým se ukázalo zjištění, že ve věkové kategorii 40 – 45 let absolvovalo aplikaci botulotoxinu do obličejových vrásek 30 % respondentek a ve věkové kategorii 50 – 60 let pak 25 %. Ostatní věkové skupiny uvedly, že botulotoxin u nich nebyl aplikován (Obr. 20). Toto zjištění může být ovlivněno i vyšším počtem žen věkové kategorie 40 až 45 let zastoupených ve studii, avšak je zde možné uvažovat rovněž o psychologickém efektu, kdy si větší množství žen v této věkové skupině snaží udržet mladistvý vzhled.

V závěru dotazníku byly položeny otázky týkající se připravené kosmetické formulace s Argirelinem®, kterou respondentky používaly čtyři týdny na vrásky v oblasti periorbitální krajiny. Na pětistupňové stupnici, kdy 1 = výborné až 5 = špatné, označilo stupeň jedna, tedy výborné účinky 36 % žen, účinky chvalitebné (stupeň 2) 28 %, stupeň 3, tedy dobré účinky 32 %, stupeň 4 (účinky dostatečné) 8 % a stupeň 5, tedy špatné účinky neuvedl žádný respondent (Obr. 21).



Obr. 21: Účinky testované formulace s Argirelinem® hodnocené v rámci dotazníkového šetření respondentkami používajícími tuto formulaci po dobu 4 týdnů v rámci studie k diplomové práci v oblasti periorbitální krajiny

Pocit negativních vedlejších účinků během čtyřtýdenního používání připraveného přípravku s Argirelinem® uvedla 4 % respondentek, bez pocitu negativních vedlejších účinků bylo 96 % žen. Jako negativní byl uveden pocit pnutí, což je možné přičítat působení gelové formulace. Celých 100 % dotazovaných žen by po této studii zařadilo do svého denního rituálu protivráskové péče o pleť kosmetický přípravek s Argirelinem®.

Z výsledků dotazníkového šetření vyplývá, že i přes to, že testu se zúčastnily ženy různých věkových skupin, s různou pletí, pracující v různém prostředí a pečující o pleť různými způsoby, všechny hodnotily působení Argirelinu® pozitivně.

ZÁVĚR

Hlavním tématem této diplomové práce bylo analyzovat změnu struktury lidské kůže po užívání připravené kosmetické formulace s kosmeceutikem Argirelinem®. Teoretická část práce se zaměřila na vymezení pojmu kosmeceutik, jejich účinnosti a bezpečnosti spolu s legislativními aspekty jejich používání v praxi. Detailněji se věnovala peptidům jako aktivním látkám, jejich působení coby kosmeceutik se zaměřením na acetyl-hexapeptid-3 s komerčním názvem Argireline®, jako netoxické náhradě botulotoxinu pro kosmetickou praxi.

Praktická část se věnovala samotnému působení Argirelinu®, který byl v rámci připravené kosmetické formulace aplikován skupině dobrovolníků v oblasti periorbitálních vrásek. Formulace obsahující 5% koncentraci Argirelinu® byla aplikována na levou periorbitální krajinu a 12,5% koncentrace peptidu pak na periorbitální krajinu pravou. Vliv tohoto proteinu na redukci vrásek v periorbitální oblasti byl hodnocen pomocí přístroje Skin-Visiometer® SV 700. Jedná se o přístroj využívající nepřímou metodu hodnocení kožního povrchu, která je založena na principu platnosti Lambert-Beerova zákona. Za tímto účelem byly nejdříve sejmuty repliky pokožky probandů, ze kterých byl získán obraz kůže průchodem světla těmito silikonovými replikami modré barvy. Analýzou zpracování obrazu bylo provedeno měření parametrů drsnosti pokožky. Byl zjišťován jednak samotný účinek kosmeceutika na pokožku, ale také vliv rozdílných koncentrací na výsledný stav pokožky, jednak v celé skupině probandů a jednak u skupiny žen nad 50 let a mladších. Metodika použitá v této studii se týkala výpočtu parametrů z kožní repliky, snímáním obrazu vytvořené repliky kůže, zpracováním obrazu a parametrů těchto replik. Byla také komentována vhodnost metody pro sběr dat za účelem měření vrásek v periorbitální oblasti.

Obecně platí, že permeační schopnost látek závisí na různých faktorech, jakými jsou jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, časový rozsah permeace, integrita, tloušťka a složky kůže, kožní metabolismus, místo, oblast a doba aplikace. Analýza účinku Argirelinu® na pokožku ve formulaci vytvořené v laboratoři Ústavu kosmetiky, tuků a detergentů Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně ukázala, že Argireline® má významný vliv na zlepšení stavu vrásek v periorbitální oblasti. Uplatněním Argirelinu® kolem očí po dobu 4 týdnů byla prokázána jeho účinnost na snížení závažnosti vrásek kolem očí, včetně jeho dobré snášenlivosti, u žen pocházejících a žijících v oblasti Střední Evropy, v průměrném věku 50 let. Konkrétně bylo měření uskutečněno na 25 ženách, které byly rozděleny do dvou skupin,

první skupinu tvořily ženy nad 50 let, druhou skupinu ženy mladší padesáti let, nejvíce zastoupenou skupinou byly ženy ve věku 44 let. Obě věkové skupiny vykazovaly shodné výsledky měření parametrů drsnosti, nebyly u nich zjištěny výrazné rozdíly v účinnosti zkoumaného acetylhexapeptidu-3. Při hodnocení průměrů parametrů drsnosti pokožky R1 až R5, u obou věkových skupin, došlo k redukci vrásek v periorbitální oblasti v průměru o 24,6 % při aplikaci 5% hexapeptidu-3 ve formulaci a k redukci o 11,4 % při aplikaci formulace s 12,5% acetylhexapeptidu-3. Vyšší účinnost formulace s nižší koncentrací účinné látky je dána použitým vehikulem, kdy se dobrá rozpustnost aktivní látky ve vehikulu projevila negativně při jejím uvolňování a absorpci. Při dobré rozpustnosti a tedy velké afinitě vehikulu totiž aktivní látka přestupuje neochotně do prostředí, ke kterému má menší afinitu.

V souvislosti s provedenou studií bylo rovněž zpracováno dotazníkové šetření. V části dotazníku týkající se samotného Argirelinu® uvedlo 36 % žen, že jim tento syntetický hexapeptid byl aplikován v rámci profesionálního kosmetického ošetření, a to nejčastěji formou ampulí. Výborné účinky připravené testované formulace s Argirelinem® pocíťovalo 36 % dotazovaných, negativní účinky pocíťovala 4 % (pocíťování pnutí). Na závěr 100 % dotazovaných zhodnotilo, že by přípravek s Argirelinem® zařadilo do svého denního rituálu péče o pleť.

Po shrnutí všech informací získaných při vypracování diplomové práce lze konstatovat, že acetyl hexapeptid-3 s komerčním názvem Argireline® působí jako účinná aktivní látka vhodná pro použití v protivráskových formulacích. Zmenšuje hloubku vrásek, snižuje anizotropii pleti a má pozitivní účinky na mechanické vlastnosti pokožky. Tento hexapeptid tedy představuje vhodnou netoxickou alternativu botulotoxinu v kosmetice jako látka, která omezuje vznik obličejových vrásek, zabraňuje předčasnému stárnutí a zlepšuje stav pokožky.

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] FARIS, P., *Cosmeceuticals and Cosmetic Practice*, Editor Wiley Blackwell and son, ©2014, s. 309. ISBN 978-1-118-38483-1
- [2] RANDE, V., Drug delivery systems. 6. Transdermal drug delivery, *J. Clin. Pharmacol* [online]. USA: Nat. Center for Biotechnolog. Inf., U.S. National Libr. of Med., 1991 May. č. **31**(5) s. 401-418. [cit. 2018-11-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2050824>
- [3] CHEN, Y., SHEN, Y., GUO, X., ZHANG, G., Transdermal protein delivery by a coadministered peptide identified via phage display, *Nat. Biotechnol.* [online]. USA: Nat. Center for Biotechnolog. Inf., U.S. National Libr. of Med., Apr. 2006, č. **24**(4)s. 455-460 [cit. 2018-11-28]. DOI: 10.1038/nbt1193. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16565728>
- [4] FOLDVARI, M., ATTAH-POKU, S., Palmitoyl derivatives of interferon alpha: potential for cutaneous delivery. *J. Pharm. Sci.* [online]. 1998 Oct., č. **87**(10)s. 1203-1209 [cit. 2018-11-28]. DOI: 10.1021/js980146k. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9758677>
- [5] RAMOS-e-SILVA, M., CELEM, L.R., RAMOS-e-SILVA, S., Anti-aging cosmetics: Facts and controversies, *Clinics in Dermatology* [online]. Nov-Dec ©2013, č. **31**(6), s. 750-758 [cit. 2018-11-23]. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2013.05.013. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24160281>
- [6] *Cosmeceuticals* [online]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Cosmeceutical>. [cit. 2018-11-23]
- [7] *Vitamín* [online]. Dostupné z: <https://wikipedia.org/wiki/Vitamín>. [cit. 2018-09-25]
- [8] DAVIES, P., BASILION, J. a HAAKE, A., *Intrinsic biology of retinoids in the skin, Physiology, biochemistry, and molecular biology of the skin*. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1991. ISBN 0195056124
- [9] VARANI, J., FISCHER, G.J., KANG, S., et al., Molecular mechanisms of intrinsic skin aging and retinoid-induced repair and reversal., *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc* [online]. 1998 Aug, č. 3(1), s. 57-60 [cit. 2018-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9732060>
- [10] FLUHR, J.W., VIENNE, M.P., LAUZE, C., et al. Tolerance profile of retinol, retinaldehyde, and retinoic acid under maximized and long-term clinical conditions, *Dermatol.* [online]. 1999, sv.199S, s. 57-60 [cit. 2018-12-06]. DOI: 10.1159/000051381. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10473963>
- [11] OBLONG, J., BISSETT, D., Retinoids, Cosmeceuticals. In: BAREL, ANDRÉ O., PAYE, M. a MAIBACH, H.I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, CRC Press. ©2014, s. 35-42. ISBN: 13:978-1-84214-564-7

- [12] MATTS, P., OBLONG, J. a BISSETT, D. A review of the range of effects of niacinamide in human skin. In: KIM, J. a LASK, GARY P., *Comprehensive Aesthetic Rejuvenation: A Regional Approach*, CRC Press. Published December 15, 2011, s. 178. ISBN: 9780415458948
- [13] JACOBSON, M., KIM, H., KIM, H., et al., *Modulating NAD-dependent DNA repair and transcription regulated pathways of skin homeostasis: evaluation in human subjects*. Poster, 60th Annual Meeting of the American Academy of Dermatology, 2002 Feb. 22-27. New Orleans
- [14] BISSET, D., Common cosmeceuticals, In: BAREL, ANDRÉ O., PAYE, M. a MAIBACH, H.I. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, CRC Press. ©2014. ISBN: 13:978-1-84214-564-7
- [15] ANDERSSON, ROLF, G.G., ABERG, G., BRATTSAND, R., et al., Studies on the mechanism of flush induced by nicotinic acid, *Acta Pharmacol Toxicol* [online]. Wiley online library, 1997, č. 41, s. 1-10 [cit. 2019-01-03]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1977.tb02116.x>
- [16] ALSTER, T., WEST, T., Effect of topical vitamin C on postoperative carbon dioxide laser resurfacing erythema, *Dermatol. Surg.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 1998 Mar., č. 24(3), s. 331-4 [cit. 2019-01-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9537007>
- [17] RASCHKE, T., KOOP, U., DUSING, H., et al., Topical activity of ascorbic acid: from In vitro optimization to in vivo efficacy., *Skin Pharmacol Physiol* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2004 Jul-Aug, č. 17(4), s. 200-6 [cit. 2019-01-03]. DOI: 10.1159/000078824. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15258452>
- [18] THIELE, Jens J., EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, S., HSIEH, S., Vitamin E in human skin: Organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology, *Molecular aspects of medicine* [pdf.]. Elsevier Saunders: Cosmeceuticals, Draelos ZD, 28(2007), s. 646-667 [cit. 2019-01-04]. DOI: 10.1016/j.mam.2007.06.001. Dostupné z: www.elsevier.com/locate/mam
- [19] BURKE, K., *Topical nutritional antioxidants*, In: Draelos ZD, Thaman, L.A. editors. *Cosmetic formulation of skin care products*, New York: Taylor and Francis, s. 377-402, 2006
- [20] MOELLER, V., ANSMANN, A., WALLAT, S., Topical application of vitamin E and its effects on the skin. In: *Science of Medicine*, MO Med January-February 2011 Page 63 [online]. *Fett Wissenschaft Technol.*, 1989;91, s. 295-305 [cit. 2019-01-12]. Dostupné z: <http://www.omagdigital.com>
- [21] SAUBERICH, H., Palmitoyl derivatives of interferon alpha: potent for cutaneous delivery, *J. Pharm. Sci.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 1998 Oct, č. 87(10), s. 1203-8 [cit. 2019-01-20]. DOI: 10.1021/js980146k. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9758677>

- [22] BLANES-MIRA, C., CLEMENTE, J., JODAS, G., et al., A synthetic hexapeptide (Argireline) with antiwrinkle activity. In: Oral presentation. Presented at: Australian Society of Cosmetic Chemists Annual Conference 2003 [online]. Wiley and Sons: First published: 14 November 2002 [cit. 2019-02-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.2002.00153.x>
- [23] MAS-CHAMBERLIN, C., LINTNER, K., BASSET, L., et al., Relevance of anti-wrinkle treatment of a peptide: 4 months, clinical double blind study vs. Excipient. In: HAHN, H.J., JUNG, H.J., et al., *Instrumental evaluation of anti-aging effects of cosmetic formulations containing palmitoyl peptides, Silybum marianum seed oil, vitamin E and other functional ingredients on aged human skin* [online]. *Exp Ther Med.*, 2016 Aug, 12(2), s. 1171-1176 [cit. 2019-02-20]. DOI:10.3892/etm.2016.3447. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4950680>
- [24] ROMITI, R., ROMITI, N., Dexpanthenol cream significantly improves mucocutaneous side effects associated with isotretionin therapy, *Pediatr. Dermatol.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2002 Jul-Aug, č. 19(4), s. 368 [cit. 2019-02-23]. PMID: 12220290. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12220290>
- [25] EBNER, F., HELLER, A., RIPPKE, et al., Topical use of dexpanthenol in skin disorders., *Am J. Clin. Dermatol.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2002, č. 3(6), s. 427-33 [cit. 2019-02-23]. DOI: 10.2165/00128071-200203060-00005. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12113650>
- [26] GUPTA, CH., GOYAL, S. a GUPTA, S., Cosmeceuticals: Beauty behind plants, *J. of Pharmacy Research* [pdf]. India 2011, 4(1), s. 56-57 [cit. 2019-02-23]. ISSN: 0974-6943. Dostupné z: <https://www.researchgate.net>
- [27] IMOKAWA, G., MISHIMA, Y., Analysis of tyrosinases as asparagin-linked oligosaccharides by conanavalin A lectin chromatography: appearance of new segment of tyrosinases in melanoma cells following interrupted melanogenesis induced by glycosylation inhibitors., *J. Invest. Dermatol* [online]. NCBI, US Nat. Libr. of Med., 1985 Aug, č. 85(2), s. 165-8. PMID: 3926905. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3926905>
- [28] OSBORNE, R., MULLINS, L., ROBINSON, L., Topical N-acetyl glukosamine and niacinamide increase hyaluronan in vitro., *J. Am Acad Dermatol.* [online]. USA, 2006, č. 54: AB 106 [cit. 2019-02-23]. Dostupné z: <https://www.mattek.com>
- [29] ORTONNE, J.P., BISSETT, D.L., Latest Insights into Skin Hyperpigmentation, *J. of Investigative Dermatology Symposium Proceeding* [pdf]. Elsevier Inc., April 2008, 13(1), s. 10-14 [cit. 2019-03-03]. DOI: <https://doi.org/10.1038/jidsymp.2008.7>
- [30] KIKUCHI, K., MATAHIRA, Y., Oral N-acetylglucosamine supplementation improves skin conditions of female volunteers: clinical evaluation by a microscopic threedimensional skin surface analyzer., *J. Appl. Cosmetol* [pdf]. April/June 2002, s. 20, s. 143-52 [cit. 2019- 03-03]. Dostupné z: [iscd.it/.../Oral-N-acetylglucosamine-supplementation-improves-skin](https://www.iscd.it/.../Oral-N-acetylglucosamine-supplementation-improves-skin)

- [31] ZÁHEJSKÝ, P.E.M.J., Role ceramidů v bariérové funkci kůže, jejich význam ve vývoji kožních onemocnění a jejich terapii, *Dermatology for Practice* [pdf]. Praha, Solen Medical | Education, December 2013; 7(4), s. 170-174 [cit. 2018-09-06]. Dostupné z: <http://dermatologiepraxi.cz>
- [32] HOGGARTH, A., WARING, M., ALEXANDER, J., A controlled, three-part trial to investigate the barrier function and skin hydration properties of six skin protectants, *Ostomy Wound Manage* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2005 Dec, č. 51(12), s. 30-42 [cit. 2018-09-06]. PMID: 16439809. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16439809>
- [33] FISCHER, E., FOURMEAU, E., Uber einige Derivate des Glykocoils, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* [pdf]. January 2006, 34(2), s. 2868-2877 [cit. 2018-09-06]. DOI: 10.1002/cber.190103402249. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs>
- [34] RAHNAMAEIAN, M., VILCINSKAS, A., Short antimicrobial peptides as cosmetics to dermatological pathogens, *Appl. Microbiol Biotechnol.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2015 Nov, 99(21), s. 8847-8855 [cit. 2019-12-20]. DOI: 10.1007/s00253-015-6926. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26307444>
- [35] FARRAR, G.E., KROSNICK, A., Milestones in clinical pharmacology: wound healing, *Clin. Ther.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 1991 May-Jun, č. 13(3), s. 430-434. [cit. 2018-12-20]. PMID: 1954644. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1954644>
- [36] GOROUHI, F., MAIBACH, H., Role of topical peptides in preventing or treating aged skin, *Int. J. Cosmet. Sci.* [pdf]. Journal compilation ©2009, 31, s. 327-345 [cit. 2019-03-08]. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2009.00490.x. Dostupné z: <https://www.beauty-review.nl>
- [37] MITRAGOTRI, A., *Modelling skin permeability to hydrophilic and hydrophobic solutes based on four permeation pathways*, *J. Control. Release* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2003 Jan, 86(1), s. 69-92 [cit. 2019-03-24]. PMID: 12490374. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490374>
- [38] PAI, V.V., BHANDARI, P. a SHUKLA, P., Topical peptides as cosmeceuticals, *Indian J. Dermatol. Venerol. Leprol* [online]. India, 2017, 83, s. 9-18 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.4103/0378-6323.186500. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27451932>
- [39] SCHAGEN, S.K., Topical Peptide Treatments with Effective Anti-Aging Results, *Cosmetics* [pdf]. MDPI, Basel, Switzerland, 22 May ©2017 [cit. 2018-06]. Dostupné z: <http://mdpi.com/journal/cosmetics>
- [40] LINTNER, K., PESCHARD, O., Biologically active peptides: From a laboratory bench curiosity to a functional skin care product, *Int. J. Cosmet. Sci.* [pdf]. Se-derma SA, France, 2000, 22, s. 207-218 [cit. 2018-06-20]. Dostupné z: www.kalidees.com/articles/biologicallyactivepeptides_ijcs.pdf

- [41] LOING, E., SUERE, T., LAMARGUE, E., UNIPEX INNOVATIONS, Trifluoracetyl-tripeptid-2 to Target Senescence for Anti-Aging Benefits. *Cosmetics and Toiletries* [online]. USA, NY, Metropolitan West, 22. duben 2017 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://www.cosmeticsandtoiletries.com/formulating/category/premium-Trifluoracetyl-Tripept>.
- [42] PUIG, A., ANTÓN, J., MANGUES., M., A new decorin-like tetrapeptide for optimal organization of collagen fibres, *Int. J. Cosmet., Sci.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2008 Apr, 30(2), s. 97-104 [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2008.00429.x. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18377618>
- [43] *Safety Assessment of Palmitoyl Oligopeptides as Used in Cosmetics* [pdf]. Washington DC, ©2016, Cosmetic Ingredient Review [cit. 2018-06-20]. Dostupné z: <http://www.cir-safety.org/sites/default/files/palmit072012slr.pdf>
- [44] European Patent Office: EP2714001A2, *New Cosmetic or Dermopharmaceutical Topical Use of a Mixture of a Ghk Tripeptide and Tetrapeptide*, [online]. Inventor: FOURNIAL, A., MONDON, P., Current Assignee: Sederma, Worldwide applications: 2011.FR. 2012.WO EP; A61K8/64 Proteins; Peptides; Derivates or degradation products thereof [cit. 2018-06-26]. Dostupné z: <http://www.google.com/patents/WO2012164488A2?cl=en>.
- [45] Patent US6620419B1, *Cosmetic or Dermopharmaceutical Use of Peptides for Healing, Hydrating and Improving Skin Appearances during Natural or Induced Ageing (Helioderma, Pollution)* [online]. Inventor: LINTNER, K., Current Assignee: Sederma, Worldwide applications: 1998.FR.1999.ES DE EP JP US WO AU; A61Q19/08 Anti-ageing preparations [cit. 2018-06-26]. Dostupné z: <https://patents.google.com/patent/US6620419B1/en>
- [46] KACZVINSKY, J., GRIFFITHS, C., SCHNICKER, M., LI, J., Efficacy anti-aging products for periorbital wrinkles as measured by 3D imaging., *J. Cosmet. Dermatol.* [online]. Wiley online Library, 01 September 2009, 8, s. 228-233 [cit. 2018-10-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2009.00444.x>
- [47] ROBINSON, L.R., FITZGERALD, N.C., DOUGHTY, D.G., et al., Topical palmitoyl pentapeptide provides improvement in photoaged human facial skin, *Int. J. Cosmet. Sci.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2005 Jun, 27(3), s. 155-160 [cit. 2018-10-15]. DOI: 10.1111/j.1467-2494.2005.00261.x. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18492182>
- [48] GUTTMAN, C., Studies demonstrate value of procollagen fragment PAL-KTTKS. In: SCHAGEN, S.K., *Topical Peptide Treatments with Effective Anti-Aging Results*, *Cosmetics* [pdf]. MDPI, Basel, Switzerland, 22 May ©2017 [cit. 2018-06]. Dostupné z: <http://mdpi.com/journal/cosmetics>
- [49] PICKART, L., FREEDMAN, J., LOHER, W., et al., Growth-modulating plasma tripeptide may function by facilitating copper uptake into cells., *Nature* [online]. US Nat. Libr. of Med., 1980 Dec 25, 288(5792), s. 715-717 [cit. 2019-03-09]. PMID: 7453803. Dostupné z: <https://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7453802>

- [50] PICKART, L., SCHAGEN, S., New data of the Cosmeceutical and tripeptide GHK, *SOFWJ*. [pdf]. 9-2015, 141 [cit. 2019-02-26]. Dostupné z: www.skinbiology.com
- [51] PICKART, L., VASQUEZ-SOLTERO, J. a MARGOLINA, A., GHK Peptide as a Natural modulator of Multiple Cellular Pathways in Skin Regeneration, *BioMed Res. Int.* [online]. Skin Biology, Research and Development Department, USA, 9 April 2015 [cit. 2019-03-16]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/648108>
- [52] ABDULGHANI, A., SHERR, A., SHIRIN, S., SOLODKINA, G., TAPIA, E., VLK, B., GOTLIEB, A., Effects of topical creams containing vitamin C, a copper-binding peptide cream and melatonin compared with tretionin on the ultrastructure of normal skin – A pilot clinical, histologic, and ultrastructural study, [online]. Elsevier Sci. ©2015, 1(4), s. 136-1411998 [cit. 2018-03-15]. ISSN: 1088-3371. Dostupné z: <https://www.infona.pl>
- [53] FINKLEY, M., APPA, Y., BHADARKAR, S., Cooper peptide and Skin Cosmeceuticals and Active Cosmetics: Drugs vs. Cosmetics [online]. New York, NY USA: ELSNER, P., MAIBACH, H., EDS.; Marcel Dekker Press, 2005, s. 549-563. IN: LIMA, T.N., MORAES, C.A.P., *Bioactive Peptides: Applications and Relevance for Cosmeceuticals*, 2018, 5(1), 21 [cit. 2019-03-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010021>
- [54] VARTANIAN, A., DAYAN, S., Facial rejuvenation using botulinum toxin A: a review and updates, *Facial Plast Surg.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2004 Feb, 20(1), s. 11-19 [cit. 2019-02-17]. DOI: 10.1055/s-2004-822954. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15034809>
- [55] RUIZ, M.A., CLARES, B., MORALES, M., CAZALLA, S. a GALLARO, V., Preparation and stability of cosmetic formulations with an anti-aging peptide, *J. Cosmet. Sci.* [online]. UN Nat. Libr. of Med., 2007 Mar-Apr, 58(2), s. 157-171 [cit. 2019-02-17]. PMID: 17520155. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17520155>
- [56] Patent US20150361137A1. *Peptide Inhibitors of Nicotinic Acetylcholine Receptor* [online]. Inventor: ZHMAK, M., UTKIN, Y., ANDREEVA, T., KURYAVSTEV, D., KRYUDOVA, E., TSETLIN, V., SHELUKHINA, I.; Current Assignee: Syneuro LLC, Worldwide applications: 2013. RU. 2014. US WO EP PL CN, CO7K7/06 Linear peptides containing only normal peptide links having 5 to 11 amino acids [cit. 2018-06-23]. United States, 2015-07-21. Dostupné z: <https://patents.google.com/patent/US20150361137>
- [57] LIPOTEC, *Leuphasil a New Pentapeptide for Expression Wrinkles available* [pdf]. Lipotec, Spain, Barcelona, 16 December 2016 [cit. 2018-06-23]. Dostupné z: <http://docplayer.net/15401907-Leuphasyl-a-new-pentapeptid-for-expression-wrinkles-code-pd080-june-2005-revision-1-a-gmpeptide-for-cosmetic-applications.html>

- [58] ZHOU, B.R., MA, L.W., LIU, J., ZHANG, J.A., XU, Y., WU, D., PERMATASARI, F., LUO, D., Protective Effects of Soy Oligopeptides in Ultraviolet B-Induced Acute Photodamage of Human Skin, *Oxid. Med. Cell. Longev* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2016 Jul 12 [cit. 2018-06-28]. DOI: 10.1155/2016/5846865. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27478534>
- [59] ANDRE-FREI, V., PERRIER, E., AUGUSTIN, C., DAMOUR, O., BORDAT, P., SCHUMANN, K., FÖRSTER, T., WALDMANN-LAUE, M., A comparison of biological actives of a new soya biopeptide studied in an in vitro skin equivalent model and human volunteers, *Int. J. Cosmet. Sci.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 1999 Oct, 21(5), s. 299-311 [cit. 2018-06-28]. DOI: 10.1046/j.1467-2494.1999.211929.x. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18503447>
- [60] MANOSROI, A., CHUTOPRAPAT, R., ABE, M., MANSROI, W. a MANSROI, J., Anti-aging efficacy of topical formulations containing niosomes entrapped with rice bran bioactive compounds, *Pharm. Biol.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2012 Feb, 50(2), s. 208-224 [cit. 2018-07-02]. DOI: 10.3109/13880209.2011.596206. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22235888>
- [61] BARBA, C., MÉNDEZ, S., RODDICK-LANZILOTTA, A., KELLY, R., PARRA, J. a CODERCH, L., Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool., *Skin. Res. Technol.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2008 May, 14(2), 243-248 [cit. 2018-07-02]. DOI: 10.1111/j.1600-0846.2007.00280.x. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18412569>
- [62] WANG, Y., WANG, M., XIAO, S., PAN, P., LI, P. a HUO, J., The anti-wrinkle efficacy of argireline, a synthetic hexapeptide, in Chinese subjects: A randomized, placebo controlled study, *J. Clin. Dermatol.* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2013 Apr, 14(2), s. 147-153 [cit. 2018-07-02]. DOI: 10.1007/s40257-013-0009-9. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23417317>
- [63] YAMOUCI, P., LOWE, N., Botulinum toxin types A and B: comparison of efficacy, duration, and dose-ranging studies for the treatment of facial rhytides and hyperhidrosis, *Clin. Dermatol.*, [online]. 2004 Jan-Feb, č. 22(1), s. 34-39. [cit. 2018-12-12]. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2003.11.005. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15158543>
- [64] KRISHAN, G., ROBERTS, M.S., GRICE, J., et al., Iontophoretic skin permeation of peptides: An investigation into the influence molecular properties, iontophoretic conditions and formulations parameters. IN: A Randomized, Placebo-Contrtrolled Study, Wang, Y., et al., The Anti-Wrinkle Efficacy of Argireline, a Synthetic Hexapeptide, in Chinese Subjects, *Am. J. of Clin. Dermatology* [pdf]. Springer, April 2013, 14, s. 147-153 [cit. 2018-07-14]. ISSN: 1175-0561. Dostupné z: <https://res.mdpi.com/cosmetics/cosmetics-04-00016.pdf>

- [65] ZHANG, L., FALLA, T., Cosmeceuticals and peptides, *Clinics in Dermatology* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2009 Sep-Oct, 27(5), s. 485-494 [cit. 2018-07-14]. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2009.05.013. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19695481>
- [66] LUPO, M.P., COLE, A.L. Dermatologic Therapy. *Cosmeceutical peptides*. Blackwell Publishing, Inc.© 2007, no. 20, s. 343-349. ISSN 1396-0296
- [67] WANG, Y., WAMG, M., XIAO, S., PAN, P., LI, P., HUO, J. The anti-wrinkle efficacy of Argireline, *J. of Cosmetic and Laser Therapy* [online]. Informa UK, Ltd., 20 January 2013, 15, 237-241 [cit. 2018-11-23]. Online ISSN 1476-4172. DOI: 10.3109/14764172.2013.769273. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.../14764172.2013.76927>
- [68] Hanáková, L., *Biopolymery jako nosiče aktivních látek v kosmetice*, Zlín 2017 [cit. 2019-04-12]. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Věra Kašpárková
- [69] BLANES-MIRA, C., ET AL., A synthetic hexapeptide (argireline) with antiwrinkle activity, *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2002, č. 24(5), s. 303-310 [cit.2019-04-23]. DOI: 10.1046/j.1467-2494.2002.00153.x. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18498523>
- [70] COURAGE a. KHAZAKA elektronik, Skin-Visiometer SV 700 USB [online]. *Skin-Visiometer SV 700 USB*. Germany, 2016 [cit. 2019-04-12]. Dostupné z: <http://courage-khazaka.de>
- [71] CIOMS, *International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects.*, Council for international organizations of medical sciences (CIOMS) [pdf]. Geneva, 2016 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: <https://cioms.sch>
- [72] POLÁŠKOVÁ, J., *Vliv kosmetických přípravků na ochrannou bariérovou funkci pokožky* [online]. Zlín 2015 [cit. 2019-02-20]. Disertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Školitel Věra Kašpárková, Konzultant Jana Pavlačková. Po přihlášení dostupné z aplikace: portal.utb.cz
- [73] FOLDVARI, M., Non-invasive administration of drug through the skin: challenges in delivery system design, *Pharm. Sci. Technolo. Today* [online]. US Nat. Libr. of Med., 2000 Dec 1, 3(12), s. 417-425 [cit. 2019-04-10]. PMID: 11116201. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11116201>
- [74] BERKA, P., *Studium bioekvivalence topických přípravků s ibuprofenem* [online]. Hradec Králové 2001 [cit.2019-04-03]. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Fakulta farmaceutická. Dostupné z: <https://is.cuni.cz/webapps/zzp>
- [75] CHALABALA, M., a kol., *Technologie léků*, sv. 2., Praha: Galén, 2. vydání, s. 184-186 a 315-318, ISBN 8072621289, 2001
- [76] CENTERCHEM. *Argireline®*, [online]. Dostupné z: <http://www.centerchem.com/>, [cit. 2019-04-26]

- [77] POLÁŠKOVÁ, J., PAVLAČKOVÁ, J., a EGNER, P., *Effect of vehicle on the performance of active moisturizing* [online]. *Skin Research and Technology*, ©2015, John Wiley and Sons, 21(4), s. 403-412. DOI: 10.1111/srt.12206 [cit. 2019-04-28]. Po přihlášení dostupné z aplikace: portal.utb.cz
- [78] PROINEX INSTRUMENTS, *Měření povrchu drsnosti* [pdf]. Proinex ©2017 [cit. 2019-05-09]. Dostupné z: <http://www.proinex.cz>
- [79] GUPTA, P. a S. GARG. Recent advances in semisolid dosage forms for dermatological application. *PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY* [pdf]. March 2002, s. 144-162 [cit. 2019-05-09]. Dostupné z: <http://www.pharmtech.com>
- [80] HOPPE, M., REZNICEK, G., KAEHLING, H., KOTISH, H., RESCH, G.P. a VALENTA, C., Topical delivery of acetyl hexapeptide-8 from different emulsions: Influence of emulsion composition and internal structure. *Eur. J. Pharm. Sci.* [online]. *US Nat. Libr. of Med.*, 2015 Feb 20, 68, s. 27-35 [cit. 2019-05-09]. DOI: 10.1016/j.ejps.2014.12.006. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/25497319>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Ac	Acetylcholin
AHA	Alfa hydroxykyseliny
Ala	Alanin
AMK	Aminokyselina
Arg	Arginin
Asp	Kyselina asparagová
BB	Blemish Balm cream
BTX-A	Botulotoxin typu A
CCD	Charge-coupled device (detektor obrazu)
Cu	Měď
ČR	Česká republika
DA	Dalton (atomová hmotnostní jednotka)
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
FRA	Francie
g	Gram
GAG	Glykosaminoglykan
Gln	Glutamin
Glu	Kyselina glutamová
Gly	Glycin
His	Histidin
H ₂ O	Voda
Ile	Izoleucin
INCI	Názvosloví (International nomenclature of cosmetic ingredients)
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram

kPa	Kilopascal
Leu	Leucin
Lys	Lysin
Met	Methionin
Mg	Hořčík
mg	Miligram
ml	Mililitr
Na	Sodík
NAD	Nikotinamidadenindinukleotid
NAD(P)	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NAG	N-acetylglukosamin
NH ₂	Amidový anion
NMF	Přirozený hydratační faktor
ng	Nanogram
OH	Hydroxidový anion
Pal	Palmitoyl
PC	Personal computer
PEG	Polyethylenglykol
pH	Potential of hydrogen (vodíkový exponent)
Phe	Fenylalanin
Pro	Prolin
SC	<i>Stratum corneum</i>
Ser	Serin
SNARE	SNAP receptor (označení pro asi 20 proteinů)
s.r.o.	Společnost s ručením omezeným
TEWL	Transepidermal water loss (transepidermální ztráta vody)

Thr	Threonin
Try	Tryptofan
Tyr	Tyrosin
USA	Spojené státy americké
USB	Universal Serial Bus (univerzální sériová sběrnice)
UV	Ultrafialové záření
UVA	Dlouhovlnné záření
UVB	Středněvlnné záření
Val	Valin
Vit.	Vitamin
\bar{x}	Aritmetický průměr
σ	Směrodatná odchylka

SEZNAM OBRÁZKŮ

1. *Sestava Skin-Visiometer® SV 700 USB, vakuová pumpa a spotřební materiál k výrobě silikonových odlitků [70].....str. 38*
2. *Princip měření [70, upraveno].....str. 39*
3. *Příprava silikonové repliky pokožky.....str. 43*
4. *Parametry drsnosti R1, R2, R3, R5 [78, upraveno].....str. 44*
5. *Možnosti volby oblasti na otisku kůže pro vyhodnocení drsnosti pokožky.....str. 45*
6. *Průměrné hodnoty parametrů drsnosti R1 až R5 5 % formulace (0) před aplikací, (4) po čtyřtýdenní aplikaci.....str. 49*
7. *Průměrné hodnoty parametrů drsnosti R1 až R5 12,5 % formulace (0) před aplikací, (4) po čtyřtýdenní aplikaci.....str. 49*
8. *Srovnání parametrů drsnosti R1 – R5 před používáním a po 4 týdnech aplik....str. 50*
9. *Rozdíly v účinnosti (redukci vrásek) 5 % a 12,5 % Argirelinu® u jednotlivých parametrů drsnosti.....str. 52*
10. *Srovnání účinku formulace s 5 % Argirelinu® v kosmetické formulaci u věkové kategorie do 50 let a nad 50 let. Před používáním přípravku (0), po čtyřtýdenním používání (4).....str. 54*
11. *Srovnání účinku formulace s 12,5 % Argirelinu® v kosmetické formulaci u věkové kategorie do 50 let a nad 50 let. Před používáním přípravku (0), po čtyřtýdenním používání (4).....str. 54*
12. *Snímky vymezené plochy kožního povrchu v oblasti periorbitálních vrásek získané před započítím používání připravené kosmetické formulace s Argirelinem® a po jeho 4 týdenním používání ve věkové skupině 50+str. 59*
13. *Snímky vymezené plochy kožního povrchu v oblasti periorbitálních vrásek získané před započítím používání připravené kosmetické formulace s Argirelinem® a po jeho 4 týdenním používání ve věkové skupině mladších 50 let.....str. 60*
14. *3D snímek repliky kožního povrchu před používáním formulace s Argirelinem® a po jeho 4 týdenním používání.....str. 61*
15. *Věkové rozmezí oslovených respondentek v dotazníkovém šetření.....str. 63*
16. *Četnost návštěv kosmetického ošetření (jednou za 4, 6, 8 týdnů, častěji, méně často – alespoň 4 krát ročně).....str. 64*
17. *Problémy uvedené v souvislosti s pletí, které trápí oslovené ženy.....str. 65*
18. *Hodnocení vystavení respondentů stresu.....str. 65*

-
19. *Charakteristika pracovního prostředí.....str. 66*
20. *Odpovědi na otázku, zda byla někdy aplikována injekce botulotoxinu do obličejových vrásek.....str. 67*
21. *Účinky testované formulace s Argirelinem® hodnocené v rámci dotazníkového šetření respondentkami používajícími tuto formulaci po dobu 4 týdnů v rámci studie k diplomové práci v oblasti periorbitální krajiny.....str. 68*

SEZNAM TABULEK

1. *Přehled peptidů vhodných pro topické použití [39].....str. 26*
2. *Složení formulací Argirelinu® použitých v testu.....str. 37*
3. *Průměrné hodnoty parametrů drsnosti a jejich směrodatné odchytky stanovené na začátku (0) a po 4 týdnech používání formulací s Argirelinem® o dvou různých koncentracích (n = 25).....str. 48*
4. *Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 5 % Argirelinu® v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a koncovým stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %.....str. 51*
5. *Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 12,5 % Argirelinu® v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a koncovým stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %.....str. 51*
6. *Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 5 % Argirelinu® v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a koncovým stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %: oblast výpočtu – horizontální.....str. 56*
7. *Rozdíly počátečního a koncového stavu parametrů drsnosti naměřené po aplikaci 12,5 % Argirelinu® v periorbitální oblasti spolu s % změnou mezi počátečním a koncovým stavem a hodnotou redukce stavu vrásek v %: oblast výpočtu – horizontální.....str. 56*

SEZNAM ROVNIC

<i>Rov. 1: Lambert Beerův zákon.....</i>	<i>str. 39</i>
<i>Rov. 2: Prostý aritmetický průměr.....</i>	<i>str. 46</i>
<i>Rov. 3: Směrodatná odchylka.....</i>	<i>str. 46</i>

SEZNAM PŘÍLOH

P I Prohlášení účastníka

P II Individuální informovaný souhlas

P III Dotazník účastníka studie týkající se diplomové práce na téma kosmeceutika a jejich vliv na pokožku, při aplikaci formulace s argirelinem (2 krát denně v oblasti periorbitálních vrásek

PŘÍLOHA P I:

Prohlášení účastníka

Souhlasím se svou účastí v hodnocení kosmetických přípravků, které mně bylo popsáno a které bude garantováno doc. MUDr. M. Bučkem, CSc. Beru na vědomí, že experiment může zahrnovat riziko nežádoucích účinků na kůži. Toto riziko mi bylo detailně objasněno a mohl(a) jsem se informovat o všech podrobnostech experimentu.

Vím, že mohu kdykoliv odvolat svůj souhlas s účastí v experimentu a mohu kdykoliv odstoupit od své účasti.

Mohu si vyžádat další informace o experimentu a oznámit nežádoucí účinky u pracovníka provádějícího hodnocení.

Souhlasím, že data získaná během měření mohou být statisticky zpracována. Veškeré údaje o průběhu a výsledcích měření, které mne mohou identifikovat, zůstanou přísně důvěrné.

Prohlašuji, že toto poučení plně chápu a podepisuji ho při plném vědomí.

V.....

Datum.....

Podpis.....

PŘÍLOHA P II

Individuální informovaný souhlas

V rámci zpracování diplomové práce budou na Vaši kůži aplikovány kosmetické přípravky. Jedná se o přípravky, které jsou za běžných uživatelských podmínek zcela bezpečné. U všech přípravků bylo zhodnoceno složení z hlediska jejich bezpečnosti, nebo se jedná o komerční přípravky. Všechny známé informace o zkoumaných přípravcích dovolují testování na dobrovolnících.

Cíl práce

Cílem práce je zjistit odezvu Vaší pokožky na aplikovaný přípravek pomocí exaktně změřených veličin.

Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit dotazník. Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v daném cvičení. Budete rovněž podrobně informováni o průběhu testu.

Metodika testu

Experiment bude prováděn pod dohledem kvalifikovaných pracovníků zaškolenou osobou pod dohledem Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Plánovaná práce zahrnuje testování vlivu kosmetických přípravků na vlastnosti pokožky. Na testovaných místech obličeje bude prováděno měření hydratace pokožky korneometrickou metodou, měření elasticity, množství seba před a po aplikaci kosmetického přípravku a bude posuzována změna stavu vrásek v blízkosti očního okolí pomocí přístroje Visioline.

Odstoupení z testu

Po dohodě s pracovníkem provádějícím testování je z testu možno kdykoliv odstoupit při výskytu jakýchkoliv potíží.

Rizika a nepříjemnosti

Během práce může dojít k lehkému podráždění pokožky. Místo aplikace může zrudnout nebo zčervenat, dočasně svědit či pálit. Nejsilnější očekávanou reakcí je zrudnutí pokožky. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.

PŘÍLOHA P III

DOTAZNÍK

týkající se diplomové práce na téma Kosmeceutika a jejich vliv na pokožku,
při aplikaci formulace s Argirelinem (2 krát denně v oblasti periorbitálních vrásek)

1. Chodíte pravidelně na profesionální kosmetické ošetření?

- ANO
- NE

Při odpovědi ANO:

- Jednou za 4 týdny
- Jednou za 6 týdnů
- Jednou za 8 týdnů
- Častěji
- Méně často (alespoň 4 krát ročně)

2. Jaké problémy v souvislosti s pletí Vás trápí nejvíce?
(označte všechny varianty, které se Vás týkají)

- vrásky
- akné
- suchá pleť
- mastná pleť
- povadlá pleť
- citlivá pleť
- hyperpigmentace
- teleangiektázie (trvalé rozšíření kapilár viditelných v kůži v podobě červených nitek)
- jiné

3. Reaguje vaše pleť citlivě na kosmetické výrobky?

- NE
- někdy
- vždy

4. Jakou má vaše pleť mikrocirkulaci (stav drobných krevních cév v oblasti obličeje)?

- normální
- bledá pleť
- začervenání

5. Absolvovala jste někdy aplikaci injekcí botulotoxinu do obličejových vrásek?

- ANO
- NE

Při odpovědi ANO:

- chodím pravidelně (několikrát do roka)
- chodím dle potřeby (alespoň jednou ročně)
- aplikaci botoxu jsem absolvovala v nedávné době (ne více než před dvěma měsíci)

6. Jste kuřák

- ANO
- NE

7. Jste v práci či doma vystavena stresu (na stupnici 1 = bez stresu až 5 = výrazné stresové zatížení)?

1 2 3 4 5

8. Užíváte pravidelně léky (včetně hormonální antikoncepce)?

- ANO
- NE

9. Co je charakteristické pro vaše pracovní prostředí? (Označte všechny varianty které se Vás týkají)

- klimatizace
- počítač
- zářivky
- venkovní prostředí
- výpary
- teplo
- chlad

10. Navštívujete solárium?

- ANO
- NE

Pokud ANO:

- pouze příležitostně (alespoň 1 x ročně)
- pravidelně (minimálně 6 x ročně)
- jsem stálý zákazník (1 a vícekrát měsíčně)

11. Měla jste alergickou reakci na některou látku vyskytující se v kosmetických výrobcích?

- ANO
- NE
- nevím o konkrétní látce, ale po některých produktech mívám reakce na pokožce

12. Byl Vám už někdy aplikován přípravek s Argirelinem v rámci profesionálního kosmetického ošetření?

- ANO
- NE
- nevím

Pokud ANO, v jaké formě?

- maska
- ampule
- krém

13. Používáte v domácí péči o pleť kosmetické přípravky s obsahem Argirelinu?

- ANO
- NE

Při odpovědi ANO jaké:

- oční krém
- denní krém
- noční krém
- pleťové sérum
- pleťovou masku
- pleťové ampule
- make-up

14. Jaké shledáváte na pleti účinky testovaného přípravku s Argirelinem (na stupnici 1 = výborné až 5 = špatné)?

1 2 3 4 5

15. Pociťovala jste negativní vedlejší účinky při aplikaci testovaného přípravku s Argirelinem?

- ANO
- NE

Pokud ANO, jaké?

- pnutí pleti
- svědění
- zarudnutí
- slzení
- vysušená pokožka
- olupování
- zvýšený mazotok
- hrubá pokožka

16. Zařadila byste po této studii do svého denního rituálu péče o pleť kosmetický přípravek s Argirelinem?

- ANO
- NE

17. Váš věk:

- 25 - 30
- 30 - 35
- 35 - 40
- 40 - 45
- 45 - 50
- 50 - 60
- 60 - 70
- více jak 70 roků