

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ANJA MESTNIK

RASTNI DEJAVNIKI V KOZMETIKI: POZNAVANJE IN UPORABA V LAIČNI IN  
STROKOVNI JAVNOSTI

GROWTH FACTORS IN COSMETICS: KNOWLEDGE AND USE IN GENERAL AND  
SCIENTIFIC PUBLIC

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, september 2014

**Zahvala**

Zahvaljujem se mentorici izr. prof. dr. Mojci Lunder za nasvete in usmerjanje pri pisanju diplomske naloge.

Zahvaljujem se svoji družini, ki mi je med študijem in nastajanjem te diplome ves čas stala ob strani.

Iskrena hvala!

**Izjava**

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom izr. prof. dr. Mojce Lunder.

Anja Mestnik

Ljubljana, september 2014

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Mirjana Gašperlin

Član diplomske komisije: doc. dr. Žiga Jakopin

Mentor: izr. prof. dr. Mojca Lunder

## Vsebina

POVZETEK .....	6
ABSTRACT .....	7
1. UVOD .....	1
1.1. KOŽA IN STARANJE .....	1
2. VLOGA RASTNIH DEJAVNIKOV PRI CELJENJU RAN IN STARANJU .....	3
2.1. CELJENJE RAN .....	4
2.1.1. CELJENJE AKUTNIH RAN .....	4
2.1.2. CELJENJE KRONIČNIH RAN .....	5
2.2. UPORABA RASTNIH DEJAVNIKOV ZA CELJENJE KRONIČNIH RAN .....	6
2.2.1. EPIDERMALNI RASTNI DEJAVNIK .....	7
2.2.2. TRANSFORMIRAJOČI RASTNI DEJAVNIK $\beta$ .....	8
2.2.3. TROMBOCITNI RASTNI DEJAVNIK .....	9
2.2.4. VASKULARNI ENDOTELIJSKI RASTNI DEJAVNIK .....	10
2.3. UPORABA RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIKI .....	10
2.3.1. RASTNI DEJAVNIKI IN RAZVOJ RAKA .....	11
2.3.2. RASTNI DEJAVNIKI IN VPLIV NA HIPERTROFIČNE BRAZGOTINE ...	12
2.3.3. PENETRACIJA RASTNIH DEJAVNIKOV .....	12
2.3.4. PRIDOBIVANJE RASTNIH DEJAVNIKOV .....	13
2.3.5. RASTNI DEJAVNIKI PRI METODI POMLAJEVANJA Z LASTNO PLAZMO .....	14
3. NAMEN DELA .....	15
4. MATERIALI IN METODE .....	15
4.1. PREGLED IN VREDNOTENJE KLINIČNIH ŠTUDIJ UPORABE RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIKI .....	15
4.2. PREGLED IZDELKOV, KI SO NA TRGU DOSTOPNI .....	16
4.3. ANKETIRANJE .....	16
5. REZULTATI IN RAZPRAVA .....	17
5.1. PREGLED IN VREDNOTENJE KLINIČNIH ŠTUDIJ UPORABE RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIKI .....	17
5.1.1. UČINKOVITOST .....	17
5.1.2. VARNOST RASTNIH DEJAVNIKOV V KLINIČNIH ŠTUDIJAH .....	25

5.1.3.	VSEBNOST IN IZVOR RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIČNIH IZDELKIH NA TRŽIŠČU .....	26
5.1.4.	STABILNOST RASTNIH DEJAVNIKOV .....	28
5.2.	PREGLED IZDELKOV, KI SO NA TRGU DOSTOPNI .....	29
5.2.1.	KOZMETIČNI IZDELKI Z ENIM RASTNIM DEJAVNIKOM .....	29
5.2.2.	KOZMETIČNI IZDELKI Z VEČ RASTNIMI DEJAVNIKI .....	29
5.3.	ANKETIRANJE .....	30
5.3.1.	UPORABA IN POZNAVANJE RASTNIH DEJAVNIKOV V LAIČNI JAVNOSTI.....	30
5.4.	UPORABA IN POZNAVANJE RASTNIH DEJAVNIKOV V STROKOVNI JAVNOSTI.....	33
5.4.1.	ANKETIRANJE STROKOVNJAKOV – DERMATOLOGOV .....	33
5.4.2.	ANKETIRANJE ŠTUDENTOV KOZMETOLOGIJE .....	34
6.	SKLEP .....	37
7.	VIRI.....	38
8.	PRILOGE .....	41
8.1.	PRILOGA 1: ANKETA ZA SPLOŠNO POPULACIJO .....	41
8.2.	PRILOGA 2: ANKETA ZA DERMATOLOGE.....	42
8.3.	PRILOGA 3: ANKETA ZA ŠTUDENTE KOZMETOLOGIJE .....	43

## KAZALO SLIK

Slika 1: Starost anketirancev .....	31
Slika 2: Spol anketirancev .....	31
Slika 3: Formalna izobrazba anketirancev .....	32
Slika 4: Poznavanje kozmetike z rastnimi dejavniki (v %).....	32
Slika 5: Uporaba kozmetike z rastnimi dejavniki (v %) .....	32
Slika 6: Zanimanje za uporabo kozmetike z rastnimi dejavniki (v %) .....	33
Slika 7: Mnenje o negativnih učinkih kozmetike z rastnimi dejavniki (v %) .....	33
Slika 8: Uporaba rastnih dejavnikov za pomlajevanje kože pri bodočem delu (v %) .....	36
Slika 9: Mnenje o zadostnem številu kvalitetnih raziskav in kliničnih študij na področju rastnih dejavnikov (v %) .....	36
Slika 10: Učinkovitost rastnih dejavnikov pri pomlajevanju kože (v %) .....	36
Slika 11: Mnenje o neželenih učinkih uporabe rastnih dejavnikov (v %) .....	36

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Opis rastnih dejavnikov, njihovega izvora in osnovnih funkcij (11).....	6
--	---

## POVZETEK

Kozmetični izdelki, ki vsebujejo rastne dejavnike, so na tržišču relativno novi. Dostopni so v spletnih trgovinah in v nekaterih drogerijah po Sloveniji. Spadajo v višji cenovni razred kozmetike. Nekaj kozmetičnih znamk z rastnimi dejavniki je ustanovljenih v Združenih državah Amerike. Večinoma so dostopne pri dermatologih, ki uporabnikom svetujejo uporabo rastnih dejavnikov, preden se odločijo za bolj invazivne procese za izboljšanje videza gub.

V prvem delu diplomske naloge smo pregledali znanstveno literaturo s področja rastnih dejavnikov, s poudarkom na njihovi vlogi pri celjenju ran in učinkovitosti dermalne uporabe. Nato smo pregledali klinične študije, kjer so bili posamezni rastni dejavniki ali mešanice več rastnih dejavnikov dermalno uporabljeni v kozmetične namene. Dotaknili smo se vprašanj o učinkovitosti, varnosti, stabilnosti in drugih tem. Kliničnih študij o rastnih dejavnikih ni veliko, večinoma so financirane s strani proizvajalcev in niso dobro načrtovane. V večini študij so prišli do zaključkov, da so izdelki z rastnimi dejavniki učinkovali na izboljšanje stanja gub, da so izdelki varni in stabilni, a te študije niso zanesljive. Na tem področju manjka več dvojno slepih randomiziranih študij, z večjim številom udeležencev in nepristranskimi raziskovalci.

V drugem delu diplomske naloge smo preučili, kako je z rastnimi dejavniki kot kozmetičnimi sestavinami seznanjena slovenska laična populacija, dermatologi, ki se ukvarjajo z estetsko dermatologijo, in študentje kozmetologije. Za vsako skupino smo pripravili vprašalnik. Odgovore smo analizirali in jih predstavili z opisom ter grafi. Rezultati anket splošne populacije so pokazali, da slovenska javnost z rastnimi dejavniki še ni dobro seznanjena. Nekaj anketirancev je rastne dejavnike že uporabljalo, a ti predstavljajo manjšino. Izdelke z rastnimi dejavniki uporablja tudi manjši del slovenskih dermatologov, ki so z njihovim učinkom zadovoljni, večina pa o rastnih dejavniki ni dobro informirana. Največ informacij o rastnih dejavnikih imajo študentje kozmetologije in bi jih tudi uporabljali pri svojem nadaljnjem delu, se pa zavedajo njihovih neželenih učinkov in posebnih pogojev shranjevanja.

**Ključne besede:** rastni dejavniki, pomlajevanje kože, klinične študije, poznavanje

## **ABSTRACT**

Cosmetic products containing growth factors are relatively new on the market. They are available through online stores and in a small number of drugstores in Slovenia. They fall in the higher price range of cosmetics. A couple of cosmetic brands with growth factors are established in United States. They are mostly accessible at the dermatologists who advise users to try cosmetic products before committing to a more invasive process to improve the appearance of wrinkles.

In the first part of my thesis I reviewed scientific literature concerning growth factors with emphasis on their role in wound healing and effectiveness after topical administration. Next, I reviewed clinical studies in which single or a mixture of growth factors were topically applied for cosmetic purposes. Effectiveness, safety stability and other issues are discussed. There are not many clinical studies regarding growth factors and they are mostly financed by producers and not well planned. In most studies they come to the conclusion that the products with growth factors showed effect on the improvement of the wrinkles and that products are safe and stable, but most of these studies are not reliable. This field is missing several double-blind randomized studies with a larger number of participants and impartial researchers.

In the second part of my thesis I examined how familiar with growth factors as cosmetic ingredient is Slovenian laic public, dermatologists who practice aesthetic dermatology and for students of cosmetic science. I prepared a questionnaire for each group. Answers were analyzed and presented with a description and graphs. The results of questionnaire of the general public have shown that the Slovenian public is not well informed about growth factors. Some people have used growth factors but they are a minority. Small part of the Slovenian dermatologists who are using products with growth factors are satisfied with their performance, but most of the dermatologists are not well-informed about growth factors. Students of cosmetic science have the most information about the growth factors and they would use them in their future work field, however they are also aware of their side effects and special storage conditions.

**Key words:** growth factors, skin rejuvenation, clinical studies, knowledge

# 1. UVOD

## 1.1. KOŽA IN STARANJE

Koža je največji in najbolj kompleksen človeški organ. Pokriva 1,5–2 m<sup>2</sup> površine telesa in predstavlja 15 % telesne teže (pri odraslem človeku). Sestavljena je iz treh plasti, zunanje plasti povrhnjice in notranje usnjice, ki ležita na najnižji plasti, podkožju. Zunanja plast ali povrhnjica (epidermis) je iz večskladnega ploščatega poroženevajočega epitelija, ki ga v glavnem sestavljajo epitelijske celice, imenovane keratinociti, prisotni pa so tudi melanociti, Langerhansove celice (pomembne pri imunskem odzivu, so antigen predstavitvene celice) in Merkleve celice (služijo kot mehanoreceptorji). Zunanjo plast sestavljajo naslednje plasti (od notranjosti proti površini kože):

- temeljna plast (*stratum basale*),
- trnasta plast (*stratum spinosum*),
- zrnata plast (*stratum granulosum*),
- svetleča plast (*stratum lucidum*),
- rožena plast (*stratum corneum*).

Celice v temeljni plasti ležijo na bazalni membrani, ki meji na usnjico. Tu se celice delijo in potujejo proti višjim plastem, kjer nadomeščajo celice, ki dozorevajo in se luščijo. V temeljni plasti se nahajajo melanociti, pigmentne celice, ki tvorijo melanin. Zrela zrnca melanina iz melanocitov prestopijo v citoplazmo keratinocitov, kjer je njihova naloga varovanje jeder keratinocitov in preprečevanje vstopa ultravijoličnih (UV) žarkov v globlje plasti kože. Trnasta plast je sestavljena iz več skladov poligonalno oblikovanih celic, ki imajo na površini trnom podobne strukture. Sledi zrnata plast, ki je iz dveh do štirih skladov celic. Svetlečo plast sestavljajo ploščate celice brez jedra, najdemo jo predvsem na dlaneh in podplatih. Najvišje je rožena plast, ki je sestavljena iz celic, ki so zapolnjene s skleroproteinom keratinom. Na površju se rožena plast lušči. Notranja plast ali usnjica (dermis) je vezivna plast kože, ki vsebuje kolagenska, elastična in retikulinska vlakna. Celice v tej plasti so predvsem fibroblasti, maščobne celice in makrofagi, tu pa se nahajajo tudi krvne in limfne žile, živčni končiči, folikli dlak in žleze. Usnjico sestavljata dve plasti, zgornja papilarna in spodnja mrežasta plast. Najglobljo plast v koži predstavlja podkožje, ki je iz rahlega veziva, tu se nahajajo krvno in limfno žilje, živci in maščobne celice (1). Koža predstavlja fizikalno in biokemično bariero, saj ščiti telo pred izgubo vode, pred zunanjimi vplivi in vdorom tujih snovi, pomembna je za uravnavanje telesne temperature, za sintezo pigmenta melanina in vitamina D<sub>3</sub>, ter predstavlja čutilni organ, saj sprejema dražljaje (1).



Staranje je normalen proces, ki se dogaja v človeškem telesu. Koža se za razliko od drugih organov, ki se starajo intrinzično (počasno, nereverzibilno propadanje tkiva), stara tudi ekstrinzično, se pravi zaradi zunanjih vzrokov, predvsem zaradi izpostavljanja soncu in UV žarkom. Klinično koža zaradi obeh oblik staranja postane gubasta, manj elastična, izpostavljanje UV sevanju pa te spremembe še poveča. Potek staranja je pri različnih vzrokih drugačen, nekatere spremembe v koži pa se pojavljajo pri obeh vrstah staranja, na primer povečana aktivnost encimov metaloproteinaz in zmanjšano nastajanje kolagena tipa 1 (2).

Intrinzično staranje je predvsem odvisno od genetike, je neizogibno in ireverzibilno. Poleg kože se stara celoten organizem, poteka neprestano, vidne spremembe se začnejo pojavljati postopoma, nanj pa razen z zdravim življenjskim slogom ne moremo vplivati. Značilnost intrinzičnega staranja je gladka koža brez madežev, s povečanimi gubami oziroma obraznimi linijami. Histološki pregled pokaže stanjšano kožo, zmanjšano število fibroblastov in mastocitov (3). Razlika med mlado in starejšo kožo se opazi tudi v celičnem ciklu, času, ko celica preide od temeljne plasti, kjer nastane z delitvijo, do rožene plasti, kjer se odlušči. Mlada koža potrebuje za ta celični cikel 20 dni, pri starejši je za to potrebnih 30 dni ali več. To povzroči dolgotrajnejšo regeneracijo in deskvamacijo (naraven proces odstranjevanja odmrlih kožnih celic), podaljša se čas celjenja ran ter poškodb. Spremembe zaradi staranja opazimo tudi v dermisu, pri kolagenskih in elastičnih vlaknih. V starani koži se količina kolagena zmanjša, saj se zmanjša sintetiziranje novih kolagenskih vlaken (starani fibroblasti ga proizvajajo manj). Spremembe v elastinskih vlaknih imenujemo solarna elastoza, kjer pride do kopičenja elastinskih vlaken, ki jih razgrajujejo encimi metaloproteinaze MMP-2 (3).

Na ekstrinzično staranje vplivajo predvsem zunanji dejavniki, tako da lahko na ta proces vplivamo oziroma ga upočasnimo. Velik vpliv imajo onesnaženje, stik s cigaretnim dimom, uživanje alkohola, slaba prehrana, zelo veliko škodo povzroča izpostavljanje soncu. Kronično izpostavljanje soncu naj bi bilo krivo za 80 % staranja kože na obrazu. Prehitro staranje kože zaradi vpliva UV žarkov imenujemo fotostarjenje. Največje posledice staranja kože so opazne na predelih, kjer je koža najbolj izpostavljena soncu: obraz, vrat, roke, zatilje (3). UV sevanje vpliva na staranje kože preko več mehanizmov: vpliva na proizvodnjo kolagena preko encimov kolagenaz, na nastanek timinskih in pirimidinskih dimerov, ki poškodujejo DNK, ter na povečanje vnetnega odgovora (3). UV svetlobo razdelimo na 3 skupine: UVC žarke (katerim v vsakodnevnem življenju nismo izpostavljeni), UVB žarke in UVA žarke. UVB žarki so glavni povzročitelji eritemov in sončnih opeklin na koži. Največji vpliv na fotostarjenje in na nastanek kožnega raka imajo UVA žarki, katerih valovna dolžina obsega

320–400 nm. V koži pri metabolizmu v mitohondrijih nenehno nastajajo radikali oziroma reaktivne kisikove zvrsti (ROS), UV sevanje pa njihovo nastajanje še povečajo. Njihova povečana količina predstavlja težavo za antioksidante v koži, ki preprečujejo začetke ali razmah reakcij oksidacije, a le pri normalni količini radikalov. Ko postane obremenitev kože z radikali prevelika, pride do oksidativnega stresa, do okvar DNA, povečanja števila mutacij in upada funkcije kože. UV žarki povečajo količino encimov, ki kolagen razgrajujejo, in zmanjšajo sintezo kolagenskih vlaken, posledica tega pa je zmanjšana količina kolagena v starani koži (3).

Za ekstrinzično starano kožo so značilne globoke gube, neenakomerna pigmentacija, zmanjšana je elastičnost kože, povečana njena občutljivost in vidnejši so vijolični madeži zaradi oslabiljenosti krvnih žil. Histološke značilnosti fotostarane kože so epidermalna atrofija, spremembe pri kolagenskih in elastičnih vlaknih (so fragmentirana, zgoščena), poveča se krhkost kolagenskih vlaken (3). Zmanjšana je njena obnovitvena funkcija. Zaradi manjše količine vode in tudi maščob pride do stanjšanja epidermalne lipidne bariere, kar vodi do suhe kože, zaradi česar je bolj občutljiva na zunanje dejavnike, večje je luščenje (deskvamacija) (5).

## **2. VLOGA RASTNIH DEJAVNIKOV PRI CELJENJU RAN IN STARANJU**

Rastni dejavniki so snovi, ki so sposobne spodbujati celično rast, proliferacijo in diferenciacijo. Za razliko od hormonov, ki delujejo na daljavo, rastni dejavniki delujejo lokalno na celice, ki jih izločajo, in na celice v bližini. So proteini, ki nadzirajo različne celične procese, navadno delujejo kot signalne molekule med celicami. Poznanih je veliko družin rastnih dejavnikov, ki jih sestavljajo proteini, ki so strukturno in evolucijsko povezani. Rastne dejavnike izločajo vse vrste celic, ki predstavljajo komponente epidermalne in dermalne plasti kože, med njimi fibroblasti, keratinociti in melanociti. Pomembni so pri celjenju ran, pri popravilu in remodeliranju kože, sposobni so stimulirati in zavirati različne procese. Njihovo aktivnost urejajo drugi rastni dejavniki in intrinzični faktorji, ki vzdržujejo homeostazo. Več rastnih dejavnikov skupaj deluje sinergistično, ni pa še dokazano, če prisotnost oziroma odsotnost določenega rastnega dejavnika odločilno vpliva na potek celjenja (6). V zadnjih nekaj desetletjih se povečuje uporaba rastnih dejavnikov v medicini.

## **2.1. CELJENJE RAN**

Celjenje ran je zapleten proces, sestavljen iz več stopenj (hemostaza, vnetje, proliferacija in preoblikovanje), ki se odvijajo v določenem časovnem zaporedju in se navezujejo ena na drugo, končni cilj pa je obnova bariere in ponovna vzpostavitev homeostaze. Pri tem sodeluje veliko različnih vrst celic, keratinociti, fibroblasti, endotelijske celice, makrofagi in trombociti. Proces nadzoruje signalno omrežje, kamor spadajo rastni dejavniki, citokini in kemokini.

Rana je prekinitev celovitega epitelijskega tkiva kože, poleg tega je lahko poškodovano tudi nižje ležeče tkivo. Rana lahko nastane zaradi ureza, lahko je posledica poškodbe tkiva, opekline, odrgnine, vbodnine, lahko je posledica razjed, diabetičnih ran ipd. Ločimo več vrst celjenja ran:

- primarno celjenje: da se rana zaceli, od svojega nastanka potrebuje od 12 do 24 ur, take rane nastanejo pri operacijah in čistih rezih. Rana se zaceli z minimalno brazgotino;
- zakasnjeno primarno celjenje: kadar je rana okužena ali robovi niso približani, ker je bila rana nekaj dni odprta, da bi preprečili infekcijo;
- sekundarno celjenje: pri bolj resnih ranah, pri katerih je bilo uničenega več mehkega tkiva, zaradi težjih poškodb, večjih opeklin, pri nekaterih operacijah. Robovi rane so razmaknjeni, pogosto vneti, zaradi česar nastane precej granulacijskega tkiva, celjenje je počasnejše, posledica so obsežnejše brazgotine (7).

### **2.1.1. CELJENJE AKUTNIH RAN**

Celjenje akutnih ran poteka kot primarno celjenje, kot zaporedje procesov, ki se tudi prepletajo. To so hemostaza, vnetje, proliferacija in remodeliranje. Hemostaza pomeni preprečitev izgube krvi oziroma ustavljanje krvavitve, v rani nastane fibrinski strdek in pride do koagulacije. Pri tem so najpomembnejši trombociti ali krvne ploščice, ki prispevajo tudi k drugim procesom celjenja ran, sodelujejo pri vnetju, reepitelizaciji, fibroplaziji in angiogenezi ter sproščajo rastne dejavnike, med njimi PDGF (trombocitni rastni dejavnik), IGF-1 (inzulinu podoben rastni dejavnik 1), EGF (epidermalni rastni dejavnik) in TGF- $\beta$  (transformirajoči rastni dejavnik  $\beta$ ). Ti proteini oziroma rastni dejavniki sprožijo začetek celjenja ran, saj

aktivirajo fibroblaste, endotelijske celice in makrofage, ki so odgovorni za vnetni odgovor. Pri vnetju imajo na celičnem nivoju največji pomen levkociti, ki varujejo telo pred okužbami, pred mikroorganizmi in tujimi beljakovinami. Po vnetnem odzivu sledi faza proliferacije, kjer prevladuje celična aktivnost, poteka reepitelizacija, ko se spet vzpostavlja epidermalna bariera, vzpostavlja se normalna oskrba tkiva s krvjo in okrepitev poškodovanega tkiva. Po 3 do 4 dneh se začnejo dogajati spremembe v dermisu, tam se začne tvoriti novo granulacijsko tkivo, nastanejo nove krvne žile (angiogeneza), začne se proliferacija fibroblastov in tvorba kolagena ter ostalih proteinov. Angiogeneza je tvorjenje novih krvnih žil iz že obstoječih, spodbujajo jo različni rastni dejavniki in citokini. Najbolj pomemben rastni dejavnik, ki sodeluje pri tem, je VEGF, ki vpliva predvsem na endotelijske celice.

Ko je rana zaceljena, se začne novo tkivo remodelirati. Remodelacija poteka hkrati s celjenjem, lahko pa se nadaljuje do 1 leta po poškodbi. Po koncu celjenja na mestu rane ostane brazgotina, sestavljena iz neaktivnih fibroblastov, zgoščenega kolagena, fragmentov elastičnih vlaken in brez prekrvavitve. Sčasoma lahko brazgotina dozori, njena sestava se popravi, a koža nikoli ni več taka, kot je bila pred poškodbo (7).

### **2.1.2. CELJENJE KRONIČNIH RAN**

Rane, ki se ne zacelijo pravilno, imenujemo kronične rane. Proces celjenja je lahko prekinjen v različnih fazah, v eni ali več točkah, zato se celjenje zavleče. Vzroki so lahko rastni dejavniki, citokini, proteaze in drugi elementi, ki sodelujejo pri celjenju. Do kroničnih ran lahko pride pri različnih stanjih, pri sladkorni bolezni, infekcijah ali slabi prehrani. Pri kroničnih ranah so v primerjavi z akutnimi v študijah našli nižjo količino rastnih dejavnikov EGF, FGF-2, TGF- $\beta$ , PDGF in VEGF, kar je razlog za nepravilno celjenje ran, saj so pri študijah celjenja akutnih ran odkrili, kako pomembni so rastni dejavniki. Rastni dejavniki so ključni za koordinacijo številnih celic med procesom celjenja.

Encimi proteaze sodelujejo pri celjenju ran, med pomembnejšimi so metaloproteinaze. Pri akutnih ranah se njihova količina v tkivih poveča, ko pa se celjenje bliža koncu, tkivni inhibitorji metaloproteinaz poskrbijo, da se njihova količina zmanjša, da ne razgrajujejo zdravega tkiva in kolagena v njem. Pri kroničnih ranah je količina različnih vrst metaloproteinaz stalno povečana, količina tkivnih inhibitorjev pa zmanjšana, zato pride do težav, in sicer do nepravilnega celjenja (7). Študije so pokazale podobnost med patofiziologijo fotostaranja in kroničnimi ranami. Podobni procesi, a zaradi drugih vzrokov, se pojavljajo tudi pri staranju kože. Količina encimov metaloproteinaz je povečana pri fotostaranju, kjer UV

sevanje poveča njihovo nastajanje, kar zmanjša količino kolagenskih vlaken. Pomemben vpliv na celjenje ran ima TGF- $\beta$ , ki sodeluje pri sintezi kolagena in zavira delovanje metaloproteinaz (8).

Pri ranah, ki se ne celijo, so opazili povečano količino vnetnih citokinov (TNF- $\alpha$ , interleukin-1 $\beta$ ). Če se kronične rane začnejo celiti, se količine citokinov zmanjšajo (7). Pri kroničnih ranah je zmanjšano nastajanje PDGF (trombocitni rastni dejavnik), KGF (keratinocitni rastni dejavnik), VEGF (žilni endotelijski rastni dejavnik), kar vodi v:

- nepravilno delovanje fibroblastov z omejenim tvorjenjem zunajceličnega matriksa,
- zmanjšane količine miofibroblastov in zanemarljivo zmožnostjo krčenja rane,
- omejeno ali neuspelo angiogenezo (9).

## 2.2. UPORABA RASTNIH DEJAVNIKOV ZA CELJENJE KRONIČNIH RAN

Celjenje ran in popravilo tkiv je zapleten proces, kjer imajo, kot smo že ugotovili, pomembno vlogo rastni dejavniki. Z raziskavami so strokovnjaki prišli do spoznanj, da so pri kroničnih ranah, ki se ne celijo pravilno, pogosti zapleti povezani z rastnimi dejavniki, in sicer predvsem s pomanjkanjem nastajanja rastnih dejavnikov. Te ugotovitve so razlog za uvedbo eksogene uporabe rastnih dejavnikov kot terapije za okrepitev in izboljšanje procesov celjenja (9).

Rastni dejavniki za dermalno uporabo pri celjenju ran, ki so trenutno dostopni na tržišču, se v formulacijah uporabljajo samostojno ali v kombinacijah. EGF, FGF-2, PDGF-BB, TGF- $\beta$ , KGF-2 ali VEGF so nekateri od rastnih dejavnikov, ki so se izkazali kot uspešni pri hitrejšem celjenju ran, nekateri so že dostopni na tržišču, nekateri so še v fazi preizkušanja (12).

Nekaj rastnih dejavnikov je opisanih v Preglednici I, pogosteje uporabljeni so podrobneje opisani v kasnejših poglavjih.

**Preglednica I: Opis rastnih dejavnikov, njihovega izvora in osnovnih funkcij (11)**

Rastni dejavnik	Okrajšava	Izvor	Vloga
Epidermalni rastni dejavnik	EGF	Trombociti, makrofagi, fibroblasti, keratinociti	Mitogeno delovanje na keratinocite in fibroblaste, migracija keratinocitov, tvorjenje granulacijskega tkiva
Transformirajoči rastni dejavnik $\beta$	TGF- $\beta$	Trombociti, limfociti T, makrofagi, endotelijske celice, keratinociti, celice gladkih mišic,	Kemotaksa granulocitov, makrofagov, limfocitov, fibroblastov in celice gladkih mišic, angiogeneza, fibroplazija,

		fibroblasti	zaviranje proizvodnje MMP, proliferacija keratinocitov
Trombocitni rastni dejavnik	PDGF	Trombociti, makrofagi, endotelijske celice, celice gladkih mišic, keratinociti	Kemotaksa granulocitov, makrofagov, fibroblastov in celic gladkih mišic, aktivacija granulocitov, makrofagov in fibroblastov, proizvodnja MMP, fibroonektina in hialurona, angiogeneza, remodelacija ran
Vaskularni endotelijski rastni dejavnik	VEGF	endotelijske celice, keratinociti, fibroblasti gladkih mišičnih celic, trombociti, nevtrofilci in makrofagi	Vpliv na permeabilnost žil, proliferacija endotelijskih celic
Fibroblastni rastni dejavnik	FGF	Makrofagi, mastociti, limfociti T, endotelijske celice, fibroblasti	Kemotaksa fibroblastov, proliferacija keratinocitov in fibroblastov, migracija keratinocitov, angiogeneza, krčenje rane, odlaganje matriksa (kolagenskih vlaken)
Keratinocitni rastni dejavnik	KGF	Keratinociti	Migracija, proliferacija in diferenciacija keratinocitov
Transformirajoči rastni dejavnik $\alpha$	TGF- $\alpha$	Makrofagi, limfociti T, keratinociti	Proliferacija hepatocitov in epiteljskih celic, izražanje protimikrobnih peptidov in kemotaktičnih citokinov (kemokinov)

### 2.2.1. EPIDERMALNI RASTNI DEJAVNIK

Epidermalni rastni dejavnik (EGF) je najpogosteje uporabljen. EGF je protein, ki vsebuje 53 aminokislin in so ga sprva izolirali iz mišjih žlez slinavk (9). V družino EGF spadajo: EGF, EGF vezan na heparin (HB-EGF), transformirajoči rastni faktor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), amfiregulin, epiregulin, betacelulin, nevroregulini in drugi. Vsi ligandi se vežejo na EGF receptor (EGFR), ki je prisoten v celotnem epidermisu, na površini celice, aktivira se ob vezavi in spodbuja notranji protein tirozin kinazo, ki spodbuja aktivnost receptorjev. *In vitro* študije so pokazale,

da aktivacija EGF receptorja pomembno vpliva na reepitelizacijo, poveča proliferacijo keratinocitov in celično migracijo (11). EGF izločajo trombociti, makrofagi in fibroblasti, njegova količina se poveča po akutni poškodbi. Eden od mehanizmov delovanja EGF je povečanje izločanja keratinov K6 in K16, ki sodelujeta pri proliferativni signalni poti.

EGF je odkril Stanley Cohen in si s tem prislužil Nobelovo nagrado za fiziologijo in medicino leta 1986. Za kozmetično uporabo ga je leta 1989 patentiral Gregory Brown. EGF je bil eden prvih rastnih dejavnikov uporabljenih v kozmetične namene, že leta 1989 ga je patentiral in v svojih izdelkih uporabil G. Brown. S sodelavci je sprva opravljal študije na živalih, leta 1986 so opravili študijo na prašičih, pri kateri so jim EGF v kremi dermalno nanašali na poškodovane predele kože, in sicer na opekline. Dokazali so, da EGF spodbuja celjenje *in vivo*, da nanos mešanice z EGF, ki so jo na poškodovan predel nanašali v razmaku od 6 do 12 ur, pospeši regeneracijo epidermisa (15). Naredili so tudi študije na koži presadka darovalcev, pri katerih so ugotovili, da dodatek EGF srebrovi kremi skrajša čas celjenja ran in opeklin v primerjavi z uporabo same kreme (16). Tudi v študiji iz leta 2003 (17) so potrdili, da nanašanje EGF na rano, skupaj s primerno nego, poveča celjenje razjed in ran pri sladkornih bolnikih.

### **2.2.2. TRANSFORMIRAJOČI RASTNI DEJAVNIK $\beta$**

V družino transformirajočih rastnih dejavnikov  $\beta$  spadajo TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3, BMP (proteini za morfogenezo kosti) in aktivini. Proizvajajo jih makrofagi, fibroblasti, keratinociti in trombociti.

TGF- $\beta$ 1 prevladuje pri celjenju ran, pomemben je pri vnetju, angiogenezi, reepitelizaciji in regeneraciji vezivnega tkiva, njegova količina se poveča pri nastanku poškodbe. Olajša prihod dodatnih vnetnih celic in poveča z makrofagi posredovano presajanje tkiva. TGF- $\beta$ 1 pomaga pri začetku tvorjenja granulacijskega tkiva, saj pripomore k izražanju genov, povezanih s tvorjenjem zunajceličnega matriksa. Poleg tega sodeluje pri krčenju rane, saj fibroblastom pomaga pri skrčenju kolagenskega matriksa. Udeležen je pri tvorjenju kolagena, predvsem kolagena tipa 1 in 3, je močen zaviralec encimov metaloproteinaz (MMP-1, MMP-3, MMP-9). TGF- $\beta$ 1 naj bi sodeloval pri celjenju mest, kjer nastanejo brazgotine. Če je količina TGF- $\beta$ 1 prevelika, stimulira rastni dejavnik vezivnega tkiva (CTGF), ki se pojavi pri nastanku hipertrofičnih in keloidnih brazgotin (11).

TGF- $\beta$ 2, druga izoforma, je prav tako vključen v vse faze celjenja: privabljanje vnetnih celic in fibroblastov na mesto rane, tvorjenje granulacijskega tkiva, povečanje reepitelizacije. Med fazo remodelacije poveča produkcijo proteinov, DNK in kolagena.

TGF- $\beta$ 3 prav tako privablja vnetne celice in fibroblaste k rani ter olajša migracijo keratinocitov. TGF- $\beta$ 3 je močan inhibitor sinteze DNK v človeških keratinocitih in njegova prisotnost v nepoškodovanem epidermisu potrjuje hipotezo, da je aktivacija TGF- $\beta$ 3 ustavitveni signal za končno diferenciacijo epidermalnega tkiva. Za razliko od ostalih dveh izoform TGF- $\beta$ 3 preprečuje nastajanje brazgotin in spodbuja boljšo organizacijo kolagenskih vlaken.

V kroničnih ranah je količina TGF- $\beta$  opazno zmanjšana zaradi razgradnje s proteolitičnimi encimi. Začetni poskusi eksogenega nanašanja TGF- $\beta$  na rane in razjede so bili uspešni, a klinična testiranja niso uspela (11).

### **2.2.3. TROMBOCITNI RASTNI DEJAVNIK**

Družino PDGF sestavljajo PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC in PDGF-DD. Proizvajajo jih makrofagi, trombociti, žilni endotelij, fibroblasti in keratinociti. PDGF ima pomembno vlogo v tvorjenju krvnih žil (angiogeneza), a ti učinki so šibkejši kot pri FGF in VEGF. Po poškodbi trombociti sprostijo PDGF v tekočino rane, kjer na mesto rane stimulirajo in privabijo nevtrofilce, makrofage, fibroblaste in celice gladkih mišic. Stimulirajo makrofage, da proizvedejo in izločajo TGF- $\beta$ . Oba rastna dejavnika povečujeta tvorjenje granulacijskega tkiva. PDGF sodeluje tudi pri reepitelizaciji, okrepi proliferacijo fibroblastov in posledično nastajanje zunajceličnega matriksa. Med remodelacijo tkiva s spodbujanjem metaloproteinaz matriksa pomaga pri razgradnji starega kolagena (11). Pripomore tudi k preobrazbi fibroblastov v miofibroblaste (18).

Pri kroničnih ranah je količina PDGF nižja, proteolitično okolje v kroničnih ranah razgrajuje PDGF, kar lahko zaustavimo z dodatkom inhibitorjev MMP. Študije na miših so pokazale, da je oslABLJENO celjenje povezano z zakasnelim proizvajanjem PDGF. Tudi primerjave med normalnim celjenjem kirurških ran in nenormalnim celjenjem dermalnih razjed so pokazale, da ima PDGF pomembno vlogo pri celjenju ran. Po drugi strani naj bi bil PDGF povezan z nastankom keloidnih in hipertrofičnih brazgotin zaradi močnega učinka na proliferacijo fibroblastov in nastanka matriksa (18).

Uradno dovoljeno zdravilo za kronične rane, ki ga je potrdila FDA (Food and Drug Administration), vsebuje človeški rekombinantni PDGF in se uporablja za diabetične rane in



razjede. Becaplermin (0,01 % Regranex gel) je homodimerni protein, ki so ga proizvedli z rekombinantno DNK tehnologijo. Študije na živalih in ljudeh so pokazale, da je učinkovit kot dopolnilo k standardni praksi celjenja ran za celjenje razjed pri sladkornih bolnikih (19). Margolis in sodelavci so dokazali njegovo učinkovitost (20).

#### **2.2.4. VASKULARNI ENDOTELIJSKI RASTNI DEJAVNIK**

Predstavniki družine VEGF so: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E in placentalni rastni dejavnik. VEGF-A proizvajajo endotelijske celice, keratinociti, fibroblasti gladkih mišičnih celic, trombociti, nevtrofilci in makrofagi. Pri celjenju je pomemben, saj spodbuja začetek angiogeneze, predvsem migracijo endotelijskih celic in proliferacijo. Po nastanku poškodbe trombociti začnejo sproščati VEGF-A, dodatna spodbuda za to je nezadostna oskrba rane s kisikom zaradi neurejenega metabolizma v okolici rane. Nastali VEGF-A torej sproži angiogenezo, obnovi prekrvavljenost tkiva, ponovno vzpostavi mikrocirkulacijo in poveča koncentracijo kisika v okolici rane. Teoretično VEGF-A deluje kot možen terapevtik, a nekatere *in vivo* študije na živalih so pri eksogenem nanašanju VEGF-A pokazale trajno uhajanje krvi iz žil in večjo verjetnost nastajanja neurejenih krvnih žil ter napačno oblikovane in slabo funkcionalne limfatične žile. Med celjenjem je povečana tudi količina VEGF-C, ki ga primarno izločajo makrofagi in ki je pomemben pri vnetnem odzivu (11).

#### **2.3. UPORABA RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIKI**

Po uspešni uporabi rastnih dejavnikov za zdravljenje kot pomoč pri celjenju ran so nekateri dermatologi in znanstveniki želeli njihovo učinkovitost uporabiti tudi v kozmetiki. Na področju dermalne uporabe rastnih dejavnikov za zmanjšanje časa celjenja in izboljšanja celjenja je bilo narejenih precej študij. Dokazana je učinkovitost različnih rastnih dejavnikov, na primer: EGF, FGF-2, TGF- $\beta$ , PDGF. Dermatolog Richard E. Fitzpatrick je predlagal, da se rastne dejavnike dermalno uporabi na starani in fotostarani koži, ki jo je primerjal s kroničnimi ranami, kjer je delovanje rastnih dejavnikov in citokinov moteno. Hipotezo, da je staranje kože primerljivo s kroničnimi ranami in da je pomlajevanje kože možno z uporabo rastnih dejavnikov, ki stimulirajo in okrepijo mehanizme celjenja, je želel potrditi s kliničnimi študijami. Dandanes je na tržišču kar nekaj znamk kozmetičnih izdelkov, katerih atribut so rastni dejavniki, ki naj bi izboljšali videz postarane kože in zmanjšali gubice, kar naj bi jim

uspelo zaradi njihove sposobnosti spodbujanja delitve epidermalnih keratinocitov in dermalnih fibroblastov ter tvorjenja zunajceličnega matriksa (12). Vloga rastnih dejavnikov na področju celjenja ran je dobro raziskana, njihovo uporabo na kozmetičnem področju pa so začeli raziskovati šele pred kratkim.

Matične celice, pridobljene iz maščobnega tkiva, se uporabljajo v regenerativni medicini. Po prehodu v poškodovano ali obolelo tkivo izločajo citokine in rastne dejavnike, ki pospešujejo celjenje, zagotavljajo antioksidante, ne nazadnje se lahko tudi diferencirajo v želeno celico. Te mehanizme pri obnovi tkiv lahko uporabimo tudi pri starani koži. Matične celice in njihovi sekretorni dejavniki vplivajo na obnovo kože z aktiviranjem fibroblastov, povečajo izločanje kolagena tipa 1 in stimulirajo migracijo fibroblastov na mesto poškodbe. Izločajo več rastnih dejavnikov, med drugim TGF- $\beta$ , VEGF, KGF (21; 22). Aplikacija je intradermalna, pa naj gre za uporabo v regenerativni medicini ali kozmetični dermatologiji (za zrelo kožo). Zato te metode ne moremo šteti med kozmetične metode (dermalni kozmetični izdelek), temveč med kirurške posege. Vpliva rastnih dejavnikov pri tej metodi ne moremo primerjati z uporabo rastnih dejavnikov v dermalno nanešenem kozmetičnem izdelku. So pa študije na tem področju spodbudile raziskovanje uporabnosti rastnih dejavnikov v kozmetičnih izdelkih pri zmanjšanju gub na obrazu.

### **2.3.1. RASTNI DEJAVNIKI IN RAZVOJ RAKA**

Ko so se začeli rastni dejavniki uporabljati v kozmetičnih izdelkih, so se začela pojavljati vprašanja o njihovi varnosti. Osnovna vloga rastnih dejavnikov je njihov vpliv na proliferacijo celic, pospešujejo njihovo delitev in nastanek kolagena. Zaradi bojazni, da bi proliferativno vplivali tudi na rakave celice kože, jih odsvetujejo ljudem z rakavimi ali predrakavimi tvorbami. Rastni dejavniki niso karcinogeni, ne povzročajo raka, so pa lahko mitogeni (mitogen je snov, ki spodbudi celice, da se pričnejo mitotično deliti), torej pospešujejo razvoj že obstoječih rakavih tvorb. Problem so nediagnosticirane oblike raka, tudi karcinomi (bazalno celični in ploščatocelični), ki se sicer razvijajo počasi in se redko širijo, saj bi se njihov razvoj lahko pospešil in bi tako postali nevarnejši.

Rastni dejavniki, na primer EGF in njegovi receptorji, so vpleteni v razvoj raka. EGFR se nahaja na površini celic in njegovo nepravilno delovanje zaradi različnih sprememb (mutacija, zvišana izraženost receptorjev) vodi do nenadzorovane rasti in delitve celic ter metastaziranja v oddaljene organe. Take spremenjene receptorje so odkrili na različnih vrstah tumorjev (rak pljuč, rak trebušne slinavke). Poznavanje vloge in delovanja EGFR je vodilo v razvoj zdravil,

t. i. zaviralcev EGFR, ki zavirajo njegovo delovanje ter posledično rast in delitev tumorskih celic (23).

Tudi VEGF je udeležen pri razvoju rakavih obolenj. Izločati se začne v majhnih tumorjih, ki nimajo lastnega žilja. VEGF potuje do sten žil v okolici in z vezavo na endotelijske celice sproži proces delitve in migracije, kar vodi do oblikovanja novih žilnih struktur, ki se razraščajo v smeri rakaste novotvorbe. Na ta način tumor dobiva snovi za rast in lahko tudi metastazira. Zaradi poznavanja imunskega odziva se pri tumorjih uporablja terapija z monoklonskimi protitelesi, ki blokirajo receptorje za VEGF, s tem zavirajo angiogenezo in rast tumorskega tkiva.

V študiji iz leta 1999 (24) so ugotovili, da rastni dejavniki, ki nastanejo pri poškodbi, stimulirajo rast tumorjev. Ko so v miši s tumorji vbrizgali tekočino iz rane (z rastnimi dejavniki), se je rast tumorjev povečala. HB-EGF in PDGF sta bila glavna mitogena dejavnika, ki sta pospešila napredovanje tumorja. Ko so njuno delovanje zavrla, se je mitogeni vpliv na rakave celice zaustavil (24).

Opisani mehanizmi, po katerih rastni dejavniki vplivajo na razvoj rakavih obolenj, lahko potekajo zaradi endogenih ali eksogenih rastnih dejavnikov. Ker je absorpcija rastnih dejavnikov po dermalni aplikaciji na nepoškodovano kožo vprašljiva, ostaja tudi vpliv na razvoj raka odprto vprašanje. Študij, ki bi se ukvarjale z rastnimi dejavniki v kozmetičnih izdelkih in njihovim vplivom na potek oziroma nastanek kožnega raka, nismo uspeli najti.

### **2.3.2. RASTNI DEJAVNIKI IN VPLIV NA HIPERTROFIČNE BRAZGOTINE**

Z uporabo rastnih dejavnikov na koži se je pojavila bojazen, da bi lahko le-ti povzročili prekomerno nastajanje kolagena, kar je značilno za brazgotine. Teoretično bi lahko pri določenih posameznikih rastni dejavniki učinkovali pretirano, namesto pomladitve kože bi nastale brazgotine. Študij, ki bi to dokazovale za rastne dejavnike v kozmetičnih izdelkih, nismo uspeli najti. Po drugi strani določeni rastni dejavniki vplivajo na celjenje brez brazgotin. Bazični fibroblastni rastni dejavnik (bFGF) so uporabili pri celjenju ran in je uspešno izboljšal nastajanje kolagenskega tkiva, zmanjšal nastajanje hipertrofičnih brazgotin, urejal nastajanje zunajceličnega matriksa, zato so na koncu študije za zdravljenje hipertrofičnih brazgotin pri ljudeh predlagali uvedbo bFGF (25).

### **2.3.3. PENETRACIJA RASTNIH DEJAVNIKOV**

Največji pomislek pri uporabi rastnih dejavnikov v kozmetične namene je aplikacija na nepoškodovano kožo, kjer je penetracija močno otežena. Da bi lahko spodbudili celično proliferacijo in nastajanje kolagena, morajo rastni dejavniki prodreti skozi epidermis, kjer dosežejo pripadajoče receptorje na površini fibroblastov ali keratinocitov. Znano je, da hidrofilne molekule, ki so večje od 500 Da, težko prehajajo skozi roženo plast. Rastni dejavniki so proteini, razmeroma velike hidrofilne molekule, večje kot 20 kDa, ki ne morejo zlahka penetrirati skozi nepoškodovano povrhnjico kože. Možne poti penetracije so tako skozi lasne mešičke, izvodila žlez znojnic in mikropoškodbe rožene plasti (26). Nekatere študije nakazujejo, da za učinek ni potrebna velika koncentracija rastnih dejavnikov, saj že majhna količina povzroči kaskadni odgovor. Med rastnimi dejavniki, ki vstopijo v povrhnjico kože, in keratinociti v povrhnjici naj bi prišlo do interakcij, ki sprožijo nastanek signalnih citokinov, ki vplivajo na celice globlje v koži, na fibroblaste v usnjici. Aktivirani fibroblasti nato sintetizirajo endogene rastne dejavnike, ki povratno spodbudijo delitev keratinocitov. S tem se začetni učinek dermalno nanesenih eksogenih rastnih dejavnikov pomnoži. Po takšni dvojni – parakrini zanki naj bi epidermalni keratinociti spodbudili dermalne fibroblaste k sintezi rastnih dejavnikov. Poleg tega so kozmetični izdelki z rastnimi dejavniki namenjeni starejši populaciji, postarana koža pa je že sama po sebi tanjša, bolj dovzetna za motnje, kar olajša penetracijo (27). Pomemben vidik pri penetraciji rastnih dejavnikov je formulacija izdelka, ki vsebuje rastni dejavnik. Za nekatere izdelke proizvajalci trdijo, da se aktivna sestavina, torej rastni dejavnik, nahaja v nosilcu, ki je topen v lipidih, kar pripomore k penetraciji (28). Ostali načini, ki bi lahko olajšali absorpcijo, so hkratna uporaba mikroporacije, elektroforeze ali iontoforeze (29).

#### **2.3.4. PRIDOBIVANJE RASTNIH DEJAVNIKOV**

Rastne dejavnike za uporabo v kozmetiki lahko pridobimo na dva glavna načina, z izolacijo iz celičnih kultur ali z rekombinantno tehnologijo. Z izolacijo iz celic živalskega ali človeškega izvora, ki jih običajno gojijo v tridimenzionalni nosilni mreži, ali iz celičnega gojišča dobijo zmes različnih rastnih dejavnikov in tudi drugih proteinov. Celice, ki se pri tem uporabljajo, so večinoma fibroblasti in keratinociti. Od fenotipa celic in pogojev okolja je odvisno, kateri rastni dejavniki se bodo izločali. Celice gojijo v okolju, ki je podobno mikrookolju v rani. Izolacija rastnih dejavnikov lahko poteka z lizo celic in/ali zbiranjem zunajceličnih komponent, ki vsebujejo rastne dejavnike, citokine in ostale sestavine. Rastni dejavniki, ki jih

pridobimo iz različnih sesalskih celičnih kultur, se lahko po strukturi in biološki aktivnosti razlikujejo od človeških.

S tehnologijo rekombinantne DNK lahko pripravimo posamezen ali več rekombinantnih rastnih dejavnikov, ki so identični človeškimi. Kot ekspresijski sistem se uporabljajo bakterije, kvasovke, sesalske in rastlinske celice, ki so modificirane tako, da imajo za rastni dejavnik vključeno DNA sekvenco. Kot ekspresijski sistem so za kozmetične izdelke zelo popularne rastlinske celične kulture in tudi cele rastline. Dejstvo, da gre za rekombinantne rastne dejavnike, proizvajalci nato radi zakrijejo z zvezo »izolirano iz rastlin«. Rastni dejavniki, proizvedeni s pomočjo rekombinantne DNA tehnologije, se od izoliranih razlikujejo po postranslacijskih modifikacijah in profilu potencialnih nečistot.

Ker je pri dermalni aplikaciji na nepoškodovano kožo profil nečistot manj pomemben kot pri parenteralni aplikaciji, so procesi izolacije in čiščenja pri obeh načinih pridobivanja zelo poenostavljeni. Določeni proizvajalci trdijo še, da ima zmes rastnih dejavnikov, citokinov in drugih proteinov, ki jih pridobijo z izolacijo iz celičnih kultur, boljše učinke kot posamezen rastni dejavnik.

### **2.3.5. RASTNI DEJAVNIKI PRI METODI POMLAJEVANJA Z LASTNO PLAZMO**

Pomlajevanje z lastno plazmo (PRP – Platelet Rich Plasma) je relativno nova metoda nekirurškega pomlajevanja kože. Gre za biostimulacijo kožnih celic s pacientovo lastno plazmo, ki vsebuje rastne dejavnike iz trombocitov. Pri tej metodi pacientu vzamejo kri (20 ml) in s postopkom centrifugiranja izločijo trombocitni del plazme. To z intradermalnimi injekcijami ali s tehniko mezoterapije vnesejo v pacientovo kožo. Trombocitni del plazme vsebuje rastne dejavnike, ki naj bi stimulirali kožo, da se regenerira in revitalizira. Endogene rastne dejavnike v tem primeru vnesemo mimo epidermisa v dermis. Teoretično naj bi bilo delovanje rastnih dejavnikov podobno, kot ga pričakujejo pri dermalni aplikaciji, torej stimulacija fibroblastov, pospešitev proliferacije keratinocitov, nastanek novih kolagenskih vlaken in drugo. Metodo oglašujejo kot manj invazivno, primerno za paciente, ki si želijo osvežitve in obnove kože obraza, a v kožo ne želijo vnašati tujih snovi (botoks, hialuronska kislina) ali bolj invazivnih kirurških posegov. Metode ne moremo obravnavati s kozmetološkega vidika, saj ne gre za kozmetični proizvod (katero koli snov ali zmes, namenjeno stiku z zunanjimi deli človeškega telesa (povrhnjico, lasiščem, nohti, ustnicami ali zunanjimi spolnimi organi) ali z zobmi in sluznico ustne votline zaradi izključno ali predvsem njihovega čiščenja, odišavljenja, spreminjanja njihovega videza, njihovega varovanja,

ohranjanja v dobrem stanju ali korekcije telesnega vonja (Uredba (ES) št. 1223/2009 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 30. novembra 2009)).

### **3. NAMEN DELA**

V sklopu diplomske naloge smo želeli pregledati področje rastnih dejavnikov v kozmetičnih izdelkih. Pregledali bomo klinične študije, ki so bile narejene na temo učinkovitosti, varnosti, stabilnosti rastnih dejavnikov. Posamezne študije bomo predstavili in jih ovrednotili. Pregledali bomo metode, ki so jih uporabili raziskovalci, in zaključke, do katerih so prišli. Preverili bomo, katere kozmetične znamke vsebujejo rastne dejavnike in kakšna je njihova vsebnost.

Empirični del diplomske naloge bomo izvedli s pomočjo anketnih vprašalnikov, s katerimi bomo pridobili informacije od treh skupin: splošne laične populacije, strokovnjakov dermatologov in študentov kozmetologije. Z anketo nameravamo izvedeti, kakšno je poznavanje in mnenje določene skupine o rastnih dejavnikih. Od dermatologov, ki se ukvarjajo z estetsko dermatologijo, želimo izvedeti, ali rastne dejavnike uporabljajo pri svojem delu, kakšno je povpraševanje in odziv uporabnikov. Zanima nas tudi, kaj o rastnih dejavnikih menijo študentje kozmetologije, ali bi jih uporabljali pri svojem bodočem delu in tudi kakšna je njihova informiranost o omejitvah in neželenih učinkih.

### **4. MATERIALI IN METODE**

#### **4.1. PREGLED IN VREDNOTENJE KLINIČNIH ŠTUDIJ UPORABE RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIKI**

Pregledali smo področje rastnih dejavnikov in njihovo uporabo v kozmetični industriji. Glede na to, da so v kozmetični uporabi novost, menimo, da je o njih pomembno poiskati verodostojne podatke.

Klinične študije smo iskali v podatkovnih bazah PubMed in ScienceDirect. V podatkovni bazi PubMed smo z uporabo filtra Article type – clinical trial in z gesli »growth factors«, »skin« našli 92 zadetkov. Od tega je bilo ustreznih 8 kliničnih študij. Ob pregledu študij, ki so bile citirane v predhodno najdenih kliničnih študijah, smo dodatno našli 3 klinične študije, prav

tako v bazi PubMed. Vključili smo vse študije ne glede na število udeležencev; tudi tiste, ki niso bile randomizirane in placebo kontrolirane.

## **4.2. PREGLED IZDELKOV, KI SO NA TRGU DOSTOPNI**

S pomočjo brskalnika Google smo poiskali kozmetične znamke, ki oglašujejo, da njihovi izdelki vsebujejo rastne dejavnike in so primerni za pomlajevanje kože obraza. Pri iskanju smo uporabili gesli: »growth factors«, »cosmetics«. Kozmetične znamke in izdelke smo poiskali tudi v kliničnih študijah. Pregledali smo sestavine izdelkov z rastnimi dejavniki. Za lažjo predstavo, v kateri cenovni razred izdelki spadajo, smo poiskali tudi cene določenih izdelkov, če so bile le-te dostopne na spletu.

## **4.3. ANKETIRANJE**

Sestavili smo 3 različne ankete, s katerimi smo želeli izvedeti, kakšno je poznavanje o uporabi rastnih dejavnikov v kozmetičnih izdelkih v 3 različnih skupinah:

- splošna laična populacija,
- strokovnjaki (dermatologi, ki se ukvarjajo s pomlajevanjem kože),
- študenti kozmetologije.

Ankete (v Prilogah) smo naredili na spletni strani [www.1ka.si](http://www.1ka.si). Prva anketa (Priloga 1), za splošno populacijo, je vsebovala 7 vprašanj o rastnih dejavnikih (in 3 demografska vprašanja). Ustvarjena je bila 8. 4. 2014, za reševanje je bila dostopna 3 mesece. V tem času smo jo posredovali na nekatere spletne forume s temami o kozmetiki, negi obraza in podobno, ki jih večinoma obiskujejo ženske ([www.diva.si](http://www.diva.si), [www.planet-lepote.com](http://www.planet-lepote.com), [www.ars-cosmetica.com](http://www.ars-cosmetica.com)). Preko teh povezav je anketo rešilo le 55 ljudi, zato smo jo kasneje objavili še na socialnih omrežjih ([www.facebook.com](http://www.facebook.com)) in jih posredovali preko elektronske pošte, kjer je anketo skupno rešilo 331 ljudi.

Anketo (v Prilogi 2) za dermatologe smo izdelali 15. 5. 2014 in jo preko elektronske pošte poslali dermatološkim centrom v Sloveniji, katerih podatke smo našli na spletu. Nekaj jih je anketo rešilo po prejeti elektronski pošti, nekatere smo kasneje poklicali in nekatere osebno obiskali. Vprašanja v anketi so bila razdeljena na dva dela, en sklop vprašanj je bil namenjen tistim, ki v svojem dermatološkem/medicinskem centru uporabljajo rastne dejavnike, drugi

sklop vprašanj tistim, ki jih ne uporabljajo. Nekaj vprašanj je bilo zaprtega tipa, nekaj odprtega tipa.

Anketo za študente kozmetologije (v Prilogi 3) smo ustvarili 14. 7. 2014 in jo študentom, skupinam posameznih letnikov, poslali preko elektronske pošte. Pri tej skupini je bila odzivnost najhitrejša. Anketa je vsebovala 11 vprašanj o temi rastnih dejavnikov in 2 demografski vprašanji.

Rezultate smo analizirali na spletni strani ankete ([www.1ka.si](http://www.1ka.si)) in s programom Microsoft Office Excel. Nekateri odgovore na odprti tip vprašanj smo združili in predstavili najpogostejše izmed njih.

## **5. REZULTATI IN RAZPRAVA**

### **5.1. PREGLED IN VREDNOTENJE KLINIČNIH ŠTUDIJ UPORABE RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIKI**

Klinične študije, ki so dostopne, so večinoma narejene na majhni skupini prostovoljcev. Večinoma so to klinične študije učinkovitosti določenih kozmetičnih znamk z ravnimi dejavniki, opravljene s strani proizvajalcev. Študij ni veliko, pogosto se opirajo na predhodno opravljene študije (iz let 2003, 2007). Če je bilo za določen izdelek opravljenih več študij, jih nismo podrobno opisovali, saj so si med seboj podobne, s podobnim izborom udeležencev in malenkost drugačnimi metodami. Izbrali smo študije, ki so citirane večkrat, in nekaj novejših, bolj razširjenih, študij. Predstavili jih bomo v naslednjih poglavjih. Prav tako smo izbirali študije različnih raziskovalcev, saj se študije, kjer so raziskovalci isti, med seboj bistveno ne razlikujejo.

#### **5.1.1. UČINKOVITOST**

V marsikaterih kozmetičnih izdelkih je uporabljena zmes različnih ravnih dejavnikov (in drugih proteinov), zato je težko ugotoviti, kakšna je učinkovitost posamezne sestavine, zgolj enega ravnega dejavnika. Poleg tega strokovnjaki sklepajo, da je sočasna uporaba več ravnih dejavnikov bolj učinkovita kot kateri koli posamezni ravnih dejavnik (28).



### **5.1.1.1. UČINKOVITOST MEŠANICE RASTNIH DEJAVNIKOV**

R. E. Fitzpatrick in Rostan sta leta 2002 (28) izvedla klinično študijo, kjer sta na prostovoljkah z izrazitimi obraznimi gubami preizkusila učinkovitost kozmetičnega izdelka, katerega aktivna sestavina je mešanica človeških rastnih dejavnikov. Opravila sta pilotno študijo, ki je bila izvedena v manjšem obsegu. Z njo sta želela ugotoviti, če nanašanje kombinacije rastnih dejavnikov na fotostarano kožo pokaže izboljšanje po 60 dneh uporabe. Izbrala sta 14 prostovoljk (po Fitzpatrickovi lestvici tipa kože 2), ki so si gel z različnimi rastnimi dejavniki (TNS Recovery Complex, SkinMedica), katerega glavna sestavina je Nouricel-MD, zaščitena mešanica človeških rastnih dejavnikov, proteinov matriksa, antioksidantov in drugih elementov, na obraz nanašale dvakrat dnevno. Rezultate so dobili na podlagi kliničnih vrednotenj, biopsij in optične profilometrije, ki so jih opravili na začetku in koncu študije. Udeleženke so po koncu študije izpolnile vprašalnike in pokazalo se je, da le ena udeleženka ni opazila izboljšanja kože zato, kot je napisala sama, ker so gube pregloboke za kakršno koli kremo. Klinično vrednotenje udeleženk je opravil dermatolog, pregledal je periorbitalni, perioralni del obraza, lica in čelo. Ocenil je, da se je največ izboljšav (pri 11 od 14 udeleženk) pojavilo na periorbitalnem predelu. Pri 3 udeleženkah izboljšav ni opazil. Pri optični profilometriji je sodelovalo 11 udeleženk, od tega vzorci 3 udeleženk niso bili ustrezni. Na silikonskih odtisih 8 udeleženk so tako ocenili hrapavost ( $R_a$  – povprečna hrapavost in  $R_z$  – povprečna globina hrapavosti) in senčenje (če je območje ravno in gladko, je senc manj). Od 8 vzorcev so pri 7 opazili zmanjšano grobost površin, pri 6 so opazili zmanjšanje meritev senčenja (za 36,2 %). Po opravljeni biopsiji so meritve epidermalne debeline pokazale povprečno povečanje za 30 %. Pokazalo se je zmanjšanje amorfnih skupkov pri elastičnem tkivu. Fitzpatrick in Rostan sta zaključila, da je uporaba gela z rastnimi dejavniki pripomogla k zmanjšanju obraznih gub, potrdila sta učinkovitost rastnih dejavnikov, drugih plati uporabe pa se s to študijo nista dotaknila (28).

Isti izdelek so leta 2010 testirali Atkin in sodelavci, ki so po trimesečni uporabi kreme z rastnimi dejavniki pri udeleženkah opazili izboljšanje vidnih znakov staranja kože. Tudi samoocena udeleženk je pokazala zadovoljstvo ob uporabi izdelka (30).

**Komentar študije:** Richard E. Fitzpatrick je ustanovitelj kozmetične znamke SkinMedica, katere izdelek je bil uporabljen v študiji, kar predstavlja konflikt interesov. Raziskovalca sta povedala, da je študija pilotna, opravljena pred glavno, dvojno slepo placebo kontrolirano raziskavo. Število udeleženk je bilo majhno (14), pri nekaterih metodah vrednotenja so lahko upoštevali le 8 udeleženk. Nekatere metode vrednotenja rezultatov so preveč subjektivne.

Najbolj nezanesljiv način je vprašalnik za udeleženske, pri katerem so same ocenile, kakšno se jim zdi izboljšanje stanja kože obraza, pri čemer so vedele, da uporabljajo kremo z učinkovino. Dermatolog je ocenjeval na podlagi fotografij z 9-stopenjsko lestvico. Čeprav ni vedel, ali so bile posnete pred ali po šestdesetdnevni uporabi, gre za oceno le enega človeka. Bolj objektivno oceno dobimo iz biopsij, z večkratnim merjenjem epidermalne debeline iz iste točke obraza, pri čemer raziskovalec ne bi vedel, za kateri vzorec gre. Kljub vsemu pa majhno število vzorcev (od 8 udeleženk) zmanjša zanesljivost rezultatov pridobljenih na ta način. Ta študija je citirana večkrat, velikokrat jo uporabljajo za izhodišče trditev o dobrih učinkih rastnih dejavnikov, a menimo, da ni izvedena ustrezno, da ugotovitve niso znanstveno dokazane.

Leta 2007 so Gold in sodelavci izvedli 2 študiji, kjer so prav tako preverjali učinkovitost mešanice rastnih dejavnikov v kozmetičnem izdelku, in sicer v kremi Bio-Restorative Skin Cream z rastnimi dejavniki in citokini (mešanica PSP: Processed Skin Cell Proteins, izdelek podjetja Neocutis) (31) (32). V prvi so samo ugotavljali učinkovitost rastnih dejavnikov pri pomlajevanju kože obraza, študija ni bila dvojno slepa ali kontrolirana (brez placebo izdelka), tako da so podobno kot Fitzpatrick in sodelavci prišli do neznanstvenih zaključkov, da njihov izdelek učinkuje (31).

Druga njihova študija je bila dvojno slepa študija s placebo izdelkom, kjer so primerjali učinek kreme Bio-Restorative Skin Cream (aktivni izdelek) in učinek kreme s podobno formulacijo, le brez rastnih dejavnikov in citokinov (placebo izdelek). 20 prostovoljk z izrazitimi obraznimi gubami, starih med 35 in 65 let (Kavkazijke, po Fitzpatrickovi lestvici tipa kože 1 ali 4), si je izdelka nanašalo na obraz v obdobju 60 dni, enega na levi ali desni predel obraza in drugega na nasprotni predel. Izdelka sta bila pakirana v enakih embalažah, udeleženske in izvajalci študije niso vedeli, na kateri strani obraza je uporabljen kateri izdelek. Izvedli so meritve topografije površine kože z napravo PRIMOS 3D, z optičnim sistemom, nastavljenim na isto območje obraza, da so bile meritve lahko ponovljive, izvedene pod standardiziranimi pogoji. Vrednosti parametrov ( $R_a$  – povprečna hrapavost,  $R_z$  – povprečna globina hrapavosti,  $R_{z_{max}}$  – maksimalna globina hrapavosti,  $R_{3z}$  – bazna globina hrapavosti,  $R_{3z_{max}}$  – maksimalna bazna globina hrapavosti,  $R_{z_{ISO}}$  – povprečna hrapavost meritve 10 točk) so izrazili kot povprečne vrednosti več meritev. Dva neodvisna dermatologa sta kožo udeleženk klinično ovrednotila, pred začetkom in po koncu študije. Videz kože sta ocenila z oceno od 1 do 5 (1 – brez gub, 2 – plitve, a vidne gube, 3 – zmerno globoke gube, 4 – globoke gube z definiranimi robovi, 5 – zelo globoke gube s povešeno kožo), pri čemer sta se oprla na slikovni material kot primer za posamezno oceno. Od 20 udeleženk jih je študijo končalo 18.

Rezultati topografije kažejo, da se je pri uporabi aktivnega izdelka hrapavost v povprečju zmanjšala od 10 % do 18 %, odvisno od parametra. Pri uporabi placebo izdelka sta se po 60 dneh opazno zmanjšala le parametra Ra in Rz za približno 10 %. Po 60 dneh uporabe je bila razlika med izdelkoma (aktivni izdelek in placebo izdelek) pri parametrih  $Rz_{max}$ ,  $R3z$  in  $Rz_{ISO}$ . Dermatologa sta ocenila vizualni učinek aktivnega in placebo izdelka. Med učinkoma teh dveh izdelkov ni statistične razlike, pri obeh se je ocena videza gub s povprečne ocene  $2,9 \pm 0,6$  izboljšala na oceno  $2,4 \pm 0,6$ . Na podlagi teh rezultatov so Gold in sodelavci zaključili, da potrjujejo ugotovitve prve študije iz istega leta, da uporaba kozmetičnih izdelkov z rastnimi faktorji in citokini ugodno vpliva na videz postarane kože. Zapisali so, da placebo izdelek ni dal tako dobrih rezultatov, ker pa sta se formulaciji razlikovali le v prisotnosti oziroma odsotnosti rastnih dejavnikov in citokinov, učinke pripisujejo slednjim (32).

**Komentar študije:** Obe študiji je financiralo podjetje Neocutis, Michael H. Gold opravlja raziskave za Neocutis, je njihov svetovalec in delničar podjetja, kar vodi do konflikta interesov. Pri drugi študiji je razliko med učinkom aktivnega in placebo izdelka pokazala topografija površine kože. Ta metoda je med uporabljenimi najbolj zanesljiva, ponovljiva, naprava objektivno zajame rezultate. Učinek se je pokazal tudi pri uporabi placebo izdelka, sicer ne pri vseh merjenih parametrih, tako da je mogoče, da izbrani placebo izdelek ni bil najbolj ustrezen. Pri kliničnih študijah kozmetičnih izdelkov je težko izključiti vpliv placebo izdelka, vehikla aktivnega izdelka. Tudi ta ima namreč lahko vpliv na kožo, na hidracijo, epidermalno izgubo kože in tudi zaščito pred zunanjimi iritanti. Že zato lahko izboljša stanje kože, kar je težava te študije in drugih, pri katerih so uporabili placebo izdelek. Naslednja metoda je ocena dermatologov, ki sta bila, kot navaja članek, neodvisna. Večjo kredibilnost ji da podatek, da je bila študija dvojno slepa, a pri rezultatih ni statistične razlike med aktivnim in placebo izdelkom. Zato težko trdijo, da ima aktivni izdelek boljši učinek kot placebo. Problem študije je tudi majhno število udeleženk, od 20 jih je celotno študijo zaključilo 18. Tudi na študije Golda se velikokrat opirajo drugi raziskovalci, vendar je potreben razmislek o ustreznosti in strokovnosti teh študij iz leta 2007.

Izdelek podjetja Neocutis so testirali tudi Lupo in sodelavci, v tem primeru je šlo za kremo, namenjeno predelu okoli oči (33). Udeleženske so si kremo nanašale 6 tednov, po kliničnem ovrednotenju fotografij so zaključili, da krema pripomore k izboljšanju stanja gub.

Študije, ki smo jih opisali do sedaj, so bile krajše (testiranje je trajalo okoli 2 meseca). Kasneje so raziskovalci opravili nekaj študij, pri katerih je testiranje trajalo dlje časa. Hussain in sodelavci (26) so leta 2008 izvedli študijo, pri kateri so testirali izdelek Neocutis, kremo z mešanico z rastnimi dejavniki in citokini, in je trajala 6 mesecev. Raziskovalci so po

kliničnem ovrednotenju stanja kože in pregledu fotografij udeleženk opazili izboljšanje izgleda kože ter zmanjšanje gub za 25 % do 35 %.

Šestmesečno študijo so izvedli tudi Mehta in sodelavci (34). Testirali so izdelek TNS Recovery Complex podjetja SkinMedica. Študija je bila dvojno slepa, randomizirana, s placebo izdelkom. V študiji je sodelovalo 60 udeležencev, moški in ženske, starih od 41 do 65 let, ki so imeli fotopoškodovano kožo ocenjeno z oceno vsaj 2 ali več (lestvica fotopoškodbe od 0 do 4). Naključno so jih razdelili v 2 skupini, kjer je ena uporabljala aktivni izdelek, druga placebo (z enakimi sestavinami kot aktivni izdelek, le brez mešanice rastnih dejavnikov), obe skupini sta si izdelek nanašali dvakrat dnevno na celoten obraz. Učinek so ovrednotili s profilometričnimi meritvami, ki so jih opravili po prvem, tretjem in šestem mesecu uporabe. Silikonske odtise periorbitalnih predelov udeležencev so na koncu analizirali s programsko opremo za optično profilometrijo. Z VISIA-CR fotografskim sistemom so posneli fotografije udeležencev na sredini (po 3 mesecih) in na koncu študije (po 6 mesecih). Fotografije so pregledali trije neodvisni strokovnjaki, ki so ocenili fotopoškodbe kože z oceno od -5 do +5 (-5 – poslabšanje stanja, 0 – ni izboljšanja fotopoškodb, +5 – popolno izboljšanje). Videz kože so ocenili z oceno od 0 do 4 (0 – brez gub, 1 – plitve, a vidne gube, 2 – zmerno globoke gube, 3 – globoke gube z definiranimi robovi, 4 – zelo globoke gube s povešeno kožo). Testiranja nista dokončala 2 udeleženca, ki sta uporabljala aktivni izdelek. Rezultati optične profilometrije so pokazali spremembe v skupini, ki je uporabljala aktivni izdelek, že po 3 mesecih uporabe, po 6 mesecih se je učinek še povečal. To so pokazali parametri grobosti, globine gub in merjenje sence. Aktivni izdelek je pokazal boljše rezultate kot placebo izdelek. Ocene dermatologov so pokazale, da se je udeležencem, ki so uporabljali aktivni izdelek, po 3 mesecih stanje fotopoškodb izboljšalo ali ostalo isto, enako po 6 mesecih. Pri udeležencih, ki so uporabljali aktivni izdelek, se je na splošno ocena fotopoškodb izboljšala za 1 oceno, pri udeležencih s placebo izdelkom pa poslabšala za 0,4 ocene. Pri tistih posameznikih, ki so imeli hujše stanje fotopoškodb (ocena 4), je bilo izboljšanje po 6 mesecih opaznejše.

**Komentar študije:** Študijo je financiralo podjetje SkinMedica, nekateri od raziskovalcev so pri tem podjetju zaposleni ali so njihovi svetovalci, kar privede do konflikta interesov. V študiji je bilo uporabljenih nekaj objektivnih in nekaj subjektivnih metod. Optična profilometrija s silikonskimi odtisi je objektivna metoda, ki je dala statistično significantne rezultate, 2 od 4 parametrov sta bila v prid aktivnemu izdelku. Ocena fotografij fotopoškodb in ocena videza kože sta lahko subjektivni metodi. Da bi bile ocene čim bolj nepristranske, so bile izvedene na slepi način, tako dermatologi niso vedeli, kdaj so bile fotografije posnete in v

katero skupino spada udeleženec. Pozitivna stran študije je večje število udeležencev in daljši čas testiranja.

### **5.1.1.2. UČINKOVITOST TGF- $\beta$ 1**

V študiji, ki so jo opravili Ehrlich, Goldman in sodelavci (2006) (35), so primerjali učinkovitost kreme, ki je vsebovala TGF- $\beta$ 1, L-askorbinsko kislino in izvleček rastline *Cimicifuga racemosa* (CRS), ter podobne kreme, ki TGF- $\beta$ 1 ni vsebovala (Vit C). Kasneje so primerjali še kremo CRS in serum z mešanico različnih rastnih dejavnikov, med njimi VEGF, PDGF-A, HGF, TGF- $\beta$ 1, brez L-askorbinske kisline (TNS). Krema CRS (Cell Rejuvenation Serum) je izdelek podjetja Topix Pharmaceuticals.

V prvem delu študije so 12 prostovoljkam, starim od 42 do 72 let, z obraznimi gubami dali testirati kremo s TGF- $\beta$ 1 (CRS) in kremo brez TGF- $\beta$ 1 (Vit C). Izvedli so randomizirano dvojno slepo primerjalno študijo in udeleženske so si nanašale kremo CRS na levo ali desno polovico obraza, na nasprotno pa kremo Vit C. Za drugi del študije so izbrali 20 prostovoljk z obraznimi gubami, starih od 29 do 74 let. Udeleženske so si morale na levo ali desno polovico obraza nanašati kremo CRS, na nasprotno stran pa serum TNS. Vsem udeleženkam, tistim iz prvega dela študije in iz drugega dela študije, je bilo naročeno, da ustrezne izdelke nanašajo dvakrat dnevno 3 mesece. Rezultate so ocenili na podlagi digitalnih fotografij, narejenih z VISIA® Complexion Analysis fotografskim sistemom, ki so jih naredili pred in po študiji. Na podlagi fotografij so štirje neodvisni dermatologi ocenili stanje gub z oceno od 1 do 5 (1 je pomenilo brez gub, 5 pa zelo globoke gube s povešeno kožo). Udeleženske so dobile vprašalnik, kjer so ocenile, kakšen se jim zdi posamezen izdelek in njegov učinek. Študije ni dokončala 1 udeleženka, ki je sodelovala pri primerjavi med kremo CRS in serumom TNS. Rezultate obeh študij so združili in ocenjevali učinkovitost CRS pri obeh skupinah. Pri udeleženkah, ki so študijo uspešno zaključile, so dermatologi na podlagi fotografij ugotovili izboljšanje stanja kože in gub pri 27 od 31 udeleženk pri uporabi kreme CRS. Skupno pozitivno izboljšanje stanja gub je 21,7 %. Splošno izboljšanje so ocenili z 12 %, a je bila standardna deviacija tako velika, da to ni statistično signifikantna razlika. S konvencionalnim testiranjem so potem dokazali signifikantno uspešnost kreme CRS (vrednost  $p = 1,698^{-0,5}$ ). Na podlagi rešenega vprašalnika so ugotovili, da je 18 od 31 udeleženk opazilo izboljšanje na polovici obraza, kjer so uporabljale kremo CRS. Po pregledu fotografij prvega dela študije so dermatologi ocenili izboljšanje pri 7 od 12 udeleženk, splošno izboljšanje stanja za 6,2 % na tisti strani obraza, kjer so uporabljale kremo Vit C, torej kremo brez TGF- $\beta$ 1. Samoocena

udeleženk je pokazala, da so 4 od 12 opazile izboljšanje pri uporabi kreme Vit C. Raziskovalci so zaključili, da zaradi statistično nesignifikantnih razlik ne morejo sklepati o učinkovitosti izdelkov. V drugem delu študije so dermatologi opazili izboljšanje izgleda gub pri 14 od 19 udeleženk, splošno izboljšanje za 6,9 % na tisti strani obraza, kjer so uporabljale serum TNS z mešanico rastnih dejavnikov. Tudi tukaj zaradi prevelike standardne deviacije (0,73) ni statistično signifikantne razlike. Do statistično pomembnih rezultatov so spet prišli s konvencionalnim testom. Vprašalnik je pokazal, da je 9 od 19 udeleženk opazilo izboljšanje pri uporabi seruma TNS. Pri 28 od 31 udeleženk se je videz gub izboljšal z uporabo kreme CRS, kreme Vit C ali seruma TNS. Najboljši rezultat se je pokazal pri uporabi kreme CRS. Raziskovalci, ki so opravili študijo, so zaključili, da uporaba izdelkov z rastnimi faktorji izboljša izgled gub tudi v primerjavi z izdelki z antioksidanti. Glede na to, da se je formulacija kreme CRS od kreme Vit C razlikovala le v vsebnosti TGF- $\beta$ 1, so uspešnost kreme CRS pripisali TGF- $\beta$ 1. Prav tako uspeh seruma TNS pripisujejo prisotnim rastnim dejavnikom. Raziskovalci so omenili še, da so pri kremi CRS uporabili dostavni sistem z liposomi za TGF- $\beta$ 1, ki je preprečil razgradnjo rastnega dejavnika (35).

**Komentar študije:** Mitchel P. Goldman je plačani svetovalec podjetja TopixPharmaceuticals, ki je študijo financiralo. Uporabljeni placebo izdelek (krema Vit C) ni bil najboljši, saj vsebuje vitamin C (L-askorbinsko kislino), ki je antioksidant in prav tako blagodejno deluje na zrelo kožo. V študiji je sodelovalo majhno število udeleženk, z velikim razponom let med najmlajšo in najstarejšo udeleženko. Rezultati študije najprej niso bili statistično ustrezni zaradi prevelikih standardnih deviacij. Rezultati tako najprej niso kazali na veliko uspešnost TGF- $\beta$ 1. Potem so s konvencionalnim testom, kot ga sami imenujejo, prišli do statistično signifikantnih razlik, ki pričajo o učinku TGF- $\beta$ 1, ter na podlagi tega zaključili, da rastni dejavniki pozitivno vplivajo na stanje gub. Videti je, kot da so raziskovalci z različnimi statističnimi izračuni prišli do za njih ugodnega rezultata. Tudi pri tej študiji bi pripomnili, da subjektivna ocena udeleženk ni najbolj zanesljiv kazalnik, kljub temu da niso vedele, kateri izdelek uporabljajo. Ocena videza kože dermatologov ni ponovljiva standardizirana metoda, lahko podvomimo tudi v njihovo objektivnost. Zato menimo, da študija ni zanesljiv dokaz učinkovitosti TGF- $\beta$ 1.

### **5.1.1.3. UČINKOVITOST EGF**

Leta 2012 so Schouest in sodelavci opravili študijo (36), pri kateri so preverjali učinkovitost seruma z EGF, BioEffect EGF Serum. Študija je trajala 3 mesece, v tem času si je 29

udeleženk, starih od 39 do 75 let (večina tipa kože 2 po Fitzpatrickovi lestvici), na obraz nanašalo serum dvakrat dnevno. Učinek so izmerili na podlagi kliničnega fotografiranja na začetku, po 1 mesecu, po 2 mesecih in po 3 mesecih uporabe. Hkrati so klinično ovrednotili izboljšanje. Udeleženke so pri vsakem fotografiranju izpolnile vprašalnik, v katerem so ocenile učinek izdelka na izboljšanje teksture kože, zmanjšanja gub, zmanjšanja rjavih in rdečih madežev ter zmanjšanja por. Testiranje je zaključilo 21 udeleženk. Na podlagi samoocen iz vprašalnika so zaključili, da so statistično pri vseh parametrih opazili izboljšanje, največje izboljšanje je bilo pri teksturi kože (57,9 % izboljšanje po 2 mesecih, 80 % po 3 mesecih.). Podobni rezultati so bili tudi pri kliničnem vrednotenju.

**Komentar študije:** Ronald L. Moy, eden od avtorjev študije, je ustanovitelj znamke DNA EGF Renewal, ki kot aktivno sestavino vsebuje EGF in ki se je zgledovala po kozmetični znamki BioEffect. Ostali avtorji študije so pri njem zaposleni. Študija je slabo zastavljena, metode vrednotenja so subjektivne. Samoocena udeleženk ni zanesljiva metoda, udeleženke so lahko pristranske, saj niso strokovnjaki s področja kozmetike, metoda ni ponovljiva ali standardizirana. Prav tako je število udeleženk majhno. Nikjer niso napisali, kdo je izvajal klinično vrednotenje, ali so fotografije pregledali neodvisni dermatologi, ali so le-ti vedeli, ali gledajo fotografije kože udeleženk, ki so uporabljale aktivni izdelek. Študija torej ni dvojno slepa, randomizirana ali kontrolirana s placebo izdelkom. Kljub temu da so avtorji zaključili, da EGF pozitivno vpliva na izboljšanje kože obraza, študija ni verodostojna.

#### ***5.1.1.4. KOMBINIRANA UPORABA RASTNIH DEJAVNIKOV IN DRUGIH NAČINOV POMLAJEVANJA***

Kozmetiko z rastnimi dejavniki dermatologi uporabljajo v kombinaciji z drugimi, lahko tudi bolj invazivnimi metodami pomlajevanja. Nekateri svetujejo njihovo uporabo kot nego po laserskem posegu. V literaturi smo našli študijo, kjer so preverjali kombinacijo rastnih dejavnikov z drugo metodo, in sicer z laserskim pilingom obraza (37), ki smo jo podrobneje opisali. Zasedili smo tudi kombinacijo svetlobnega laserja (Isolaz) in rastnih dejavnikov (natančneje EGF), pri kateri so ugotovili, da se dermalna remodelacija hitreje začne pri uporabi obeh metod pomlajevanja kot pri uporabi le svetlobnega laserja (38).

Gold in sodelavci (37) so izvedli klinično študijo, pri kateri so na prostovoljkah izvedli laserski piling obraza, pred in po tem so na kožo nanašali serum s hialuronsko kislino in kremo z rastnimi dejavniki. Uporabili so kremo Bio-Restorative Skin Cream podjetja Neocutis. 15 prostovoljk, starih od 35 do 65 let, z opaznimi obraznimi gubami je kot

predpripravo na laserski poseg en mesec izvajalo nego obraza, in sicer so si dvakrat na dan na obraz nanašale serum s hialuronsko kislino, čezenj pa kremo, v kateri je bila zmes človeških rastnih dejavnikov. Po enem mesecu so na udeleženkah izvedli laserski piling. Po posegu so en mesec nadaljevale z nego obraza, kasneje so bile deležne še enega laserskega pilinga, skupno torej dva laserska pilinga in dva meseca posebne nege s kozmetičnimi izdelki. Rezultate so podali na podlagi kliničnega vrednotenja okrevanja po posegu in izboljšanja izgleda obraznih gub z vizualnim sistemom točkovanja. Klinično študijo je dokončalo vseh 15 prostovoljk, ena je zavrnila drugi laserski piling zaradi premajhnega časovnega razmika med posegoma. Po končani študiji se je izboljšal videz gubic, hiperpigmentacije in por, izboljšala se je struktura kože. Učinek je bil po 60 dneh boljši kot po 30 dneh, na sredini študije po prvem laserskem posegu. Ocenili so, da je čas okrevanja po posegu krajši, če se laserski piling kombinira s pravilno nego, torej s kozmetični izdelki s hialuronsko kislino in rastnimi dejavniki, le-ti pa lahko izboljšajo učinek posegov. Udeleženke so izpolnile vprašalnik, kjer so bile vprašane o občutku pri uporabi izdelkov in njihovem mnenju. Nekaj jih je omenilo rahlo pekoč občutek po nanosu izdelkov (37).

**Komentar študije:** V študiji so uporabljali izdelek podjetja Neocutis, ki je študijo financiralo. Gold in Cohen, ki sta sodelovala pri klinični študiji, za to podjetje izvajata raziskave. O resničnem vplivu rastnih dejavnikov pri tej študiji težko odločimo, saj vplivov na okrevanje po posegu ne moremo primerjati z okrevanjem istih udeleženk pri uporabi samo laserskega pilinga. Smotrnejše bi bilo nego izvajati le na polovici obraza, za primerjavo pa izvesti piling na celotnem obrazu ali uporabiti kontrolno skupino. Ali imajo rastni dejavniki izdaten vpliv na obrazne gube, tu težko določimo, saj bi se hiperpigmentacija, gube in videz por izboljšali tudi, če bi izvedli le laserski piling. Slabost študije je tudi majhno število udeleženk.

### **5.1.2. VARNOST RASTNIH DEJAVNIKOV V KLINIČNIH ŠTUDIJAH**

Večina opravljenih študij, ki se dotikajo vprašanja varnosti uporabe rastnih dejavnikov, je bila opravljena v povezavi z njihovo uporabo pri celjenju ran. V ta namen se rastne dejavnike uporablja krajši čas. Če se rastni dejavniki uporabljajo v kozmetičnih izdelkih za nego zrele kože, se njihova uporaba ponavlja v daljšem časovnem obdobju. Pojavljajo se pomisleki, saj če rastni dejavniki pospešujejo proliferacijo celic, bi lahko povzročili oziroma pospešili napredek raka ali druge zdravstvene probleme. Prekomerna proliferacija celic je lahko tudi bolezenski znak, primer je bolezen psoriaza. Pri uporabi TGF- $\beta$ , ki stimulira nastanek



kolagena, se pojavlja zaskrbljenost glede nastanka brazgotin, ki bi lahko nastale zaradi prevelike količine kolagena.

Fitzpatrick v svoji študiji iz leta 2002 (28) opiše, da so pred izvajanjem kliničnih študij, pri katerih so učinkovitost uporabe rastnih dejavnikov preverjali na pacientih prostovoljcih, opravili preliminarne študije *in vitro*, ki so potrdile, da raztopina rastnih dejavnikov stimulira proizvodnjo kolagena iz fibroblastov in stimulira celično proliferacijo keratinocitov in fibroblastov. Varnost so testirali na sevih celic in celičnih kulturah, prav tako so izvedli klinična testiranja za draženje kože in test z obliži za alergije. Glede na rezultate testov so zaključili, da je raztopina varna in netoksična.

V študiji iz leta 2008, ki so jo opravili Mehta in sodelavci, so testirali tudi varnost izdelka z rastnimi dejavniki. Zapisali so, da so udeleženci izdelek dobro prenašali, pri nekaterih so se pojavili stranski učinki, ki pa študije niso prekinili (pri enem udeležencu se je pojavil seboroični dermatitis, pri drugem virusna okužba, pri tretjem draženje oči) (34). V ostalih študijah, ki smo jih obravnavali, o neželenih učinkih niso poročali.

V letošnjem letu (marca 2014) so se v ZDA začela pojavljati vprašanja o varnosti kozmetičnih izdelkov, ki vsebujejo rastne dejavnike. Natančneje, vložena je bila tožba proti podjetju, ki je lastnik kozmetike SkinMedica, ki v nekaterih izdelkih uporablja t. i. TNS (Tissue Nutrient Solution) kompleks, fiziološko uravnoteženo zmes rastnih faktorjev, citokinov, antioksidantov in proteinov matriksa. Pri SkinMedica naj bi izdelke z rastnimi faktorji nepravilno označili, jih obravnavali kot kozmecevtike. Izraz kozmecevtiki uporabljamo za aktivno, funkcionalno kozmetiko, ki s svojim delovanjem že skoraj meji na dermatike. Zakonodaja kozmecevtike obravnava kot kozmetične izdelke. S tem naj bi se SkinMedica izognila ustreznim soglasjem vlade, drugačnemu označevanju in ustreznim varnostnim študijam, ki bi bile potrebne, če bi izdelek dali na trg kot zdravilo. Očitajo jim, da pri trženju svojih izdelkov niso ustrezno razkrili zdravstvenih tveganj, povezanih s temi rastnimi dejavniki. Uporaba izdelkov SkinMedica bi lahko povečala tveganje za nastanek raka in druga tveganja za zdravje (39).

Na embalaži kozmetičnih izdelkov, ki vsebujejo rastne dejavnike, in na spletnih straneh trgovin teh kozmetičnih izdelkov, najdemo navodila, da izdelkov ne priporočajo ljudem, ki imajo bolezensko obolenje, ki ima vpliv na kožo, oziroma so takšna obolenja imeli. Pred uporabo izdelkov s t. i. aktivnimi sestavinami jim priporočajo posvet z zdravnikom.

### **5.1.3. VSEBNOST IN IZVOR RASTNIH DEJAVNIKOV V KOZMETIČNIH IZDELKIH NA TRŽIŠČU**

Kozmetični izdelki vsebujejo različne rastne dejavnike, v nekaterih primerih je uporabljena zmes, drugje posamezen dejavnik. Proizvajalci natančnih količin in aktivnih sestavin ne navajajo. Pri izdelkih, ki vsebujejo zmes rastnih dejavnikov pridobljenih iz celičnih kultur fibroblastov in keratinocitov, so poleg teh prisotni tudi drugi proteini. Sestave take zmesi ne moremo ponovljivo proizvajati v laboratoriju, saj jo je s trenutnimi tehnikami nemogoče popolnoma analizirati (6). Zato je vprašljiva tudi ponovljivost med serijami. Proizvajalci, ki v kozmetičnih izdelkih uporabljajo eno vrsto rastnega dejavnika, na izdelku ne označijo točne vsebnosti. Proizvajalci se izognejo navajanju tudi, če gre za rekombinantne rastne dejavnike. Če gre za izolirane dejavnike iz celičnih kultur, pri tem ne navajajo, ali gre za človeške rastne dejavnike.

Za izdelek TNS Recovery Complex proizvajalec, podjetje SkinMedica, navaja, da med drugim vsebuje 20–30 ng/ml TGF- $\beta$ . Trdijo, da naj bi vsaj določena količina te aktivne sestavine penetrirala na mesto delovanja. Študije vpliva rastnih dejavnikov na celjenje ran so namreč pokazale, da neznatne količine rastnih dejavnikov (1–2 ng) lahko vplivajo na akutne rane (28). Pri nekaterih izdelkih proizvajalci trdijo, da se aktivna sestavina, torej rastni dejavnik, nahaja v nosilcu, ki je topen v lipidih, kar pripomore k penetraciji (28). Primerjavo med učinkovitostjo rastnih dejavnikov na akutno rano in nepoškodovano starano kožo so uporabili proizvajalci kozmetičnega izdelka, zato menimo, da primerjava ni ustrezna. Aplikacija na poškodovano tkivo se razlikuje od aplikacije na nepoškodovano kožo, saj je pri prvem penetracija olajšana, kožna bariera je poškodovana, zato manjša količina rastnih dejavnikov učinkuje, saj je aplicirana na mesto delovanja. Delovanje rastnih dejavnikov v kozmetičnih izdelkih pa je odvisno od penetracije skozi nepoškodovano kožno bariero.

Izdelki Neocutis vsebujejo mešanico rastnih dejavnikov in citokinov, imenovano PSP (Processed Skin Cell Proteins), ki je pridobljena z biotehnološkim procesom, z uporabo kultiviranih fibroblastov človeškega ploda (Cultured Human Fetal Fibroblasts), ki izvirajo iz namenske celične banke, določene za razvoj izdelkov za celjenje ran (26). Izdelki BioEffect in DNA EGF Renewal vsebujejo rekombinantni rastni dejavnik EGF. Pridobivajo ga iz gensko spremenjenega ječmena, ki ga gojijo hidroponično na vulkanskem plovcu. Rekombinanten protein se izloča v semena, od koder ga izolirajo z ekstrakcijo in afinitetno kromatografijo (36).

Vsi proizvajalci zagotavljajo učinkovitost svojih izdelkov, malo pa jih pove, kaj njihovi izdelki zares vsebujejo. Večinoma so to patentirane mešanice, kjer lahko o vsebini le ugibamo. Poleg tega oglašujejo, da je pomlajevanje z rastnimi dejavniki naraven način pomlajevanja, da so njihovi izdelki iz naravnih virov. V resnici gre ali za rekombinantne

proteine ali za izolate iz celičnih kultur. Glaven vzrok temu je popularnost naravnih izdelkov, saj oglaševanje predstavlja velik vpliv na prodajo nekega izdelka. S trditvami, da gre za izdelke s sestavinami iz naravnih virov, želijo kupca prepričati v nakup. Če bi kupec namreč vedel, da so v proizvodnjo vpletene transgene rastline, bi ga to verjetno odvrnilo od nakupa. Pregled točnih sestavin nekaterih kozmetičnih znamk z rastnimi dejavniki smo zapisali v poglavju Pregled izdelkov, ki so na trgu dostopni.

#### 5.1.4. STABILNOST RASTNIH DEJAVNIKOV

Rastni dejavniki in podobni biološko aktivni proteini so nestabilni v nefiziološkem okolju, zato morajo biti ustrezno shranjeni (npr. pri temperaturah nižjih od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Ko se kozmetične izdelke z rastnimi dejavniki formulira, je potrebno razmišljati o stabilnosti in učinkovitosti rastnih dejavnikov. Ti so namreč občutljivi na prisotnost površinsko aktivnih snovi, alkoholov in drugih pomožnih snovi, ki denaturirajo proteine. Z vidika stabilnosti je pomemben tudi vir, iz katerega so rastne dejavnike pridobili, saj vpliva na koncentracijo pridobljenih proteinov in posledično na rok uporabe izdelka. Če se zaradi zapletene formulacije ne da kvantitativno analizirati sestave zmesi rastnih dejavnikov, je za dokazovanje stabilnosti izdelka v času roka uporabnosti potrebno uporabiti primerne analize tehnike za merjenje biološke aktivnosti (6). Nekateri proizvajalci navajajo, da so s testi pospešenega staranja dokazali uporabnost do dveh let (28). Večina kozmetičnih izdelkov z rastnimi dejavniki ima na embalaži oznako, da so uporabni od 18 mesecev do 2 let, da pa jih je potrebno shranjevati v ustreznih pogojih. Predvsem poudarjajo pomen temperature. Izdelkov naj ne bi bilo potrebno shranjevati v hladilnikih, temveč pri okoli  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  in manj (ampak ne manj kot  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Proizvajalci navajajo, da izdelkov ni priporočljivo izpostavljati sončni svetlobi.

**Komentar študij:** Pogoji shranjevanja kozmetičnih izdelkov z rastnimi dejavniki se po priporočilih proizvajalcev bistveno ne razlikujejo od preostalih kozmetičnih izdelkov. Pri vseh se svetuje izogibanje sončni svetlobi, previsoki ali prenizki temperaturi. Kozmetični izdelki z rastnimi dejavniki so na voljo tudi v drogerijah, kjer so res pod istimi pogoji kot ostali kozmetični izdelki. Nekatera podjetja rešujejo problem nestabilnih sestavin s formulacijo. Pri podjetju SkinMedica je na voljo novi izdelek, katerega embalaža je iz dveh ločenih komor, v eni je mešanica rastnih dejavnikov in citokinov, v drugi pa ostale sestavine. Komori uporabnik združi pred nanosom na kožo. Navajajo, da to zagotavlja večjo stabilnost, saj so proteini ločeni od sestavin, zaradi katerih bi lahko denaturirali, kar ne bi več zagotavljalo njihovega delovanja. Pri ostalih izdelkih bi lahko o ustreznosti formulacije in stabilnosti

sklepali na podlagi študij učinkovitosti (če izdelek učinkuje na zgubano kožo), a proizvajalci teh študij niso izvajali ob izdelavi in ob koncu roka uporabe (po dveh letih), zato iz kliničnih študij ni mogoče sklepati o stabilnosti izdelkov.

## 5.2. PREGLED IZDELKOV, KI SO NA TRGU DOSTOPNI

### 5.2.1. KOZMETIČNI IZDELKI Z ENIM RASTNIM DEJAVNIKOM

Kozmetična znamka ReVive (<http://www.reviveskincare.com/>) je bila ena izmed prvih na tržišču rastnih dejavnikov. Brown in sodelavci so jo poslali na trg po uspehih raziskav o celjenju ran in opeklin, pri katerih so dobili zelo obetavne rezultate o uporabi EGF. To so potem prenesli v kozmetično industrijo in ustvarili znamko, ki je temeljila na EGF. Krema Moisturizing Renewal Cream je bila ena izmed njihovih prvih izdelkov. Kasneje so formulacije spremenili in danes podjetje v svojih izdelkih EGF ne uporablja več .

Kozmetična znamka BioEffect (<http://bioeffect.com/>) v svojih izdelkih poudarja učinkovino EGF. To je ena izmed redkih evropskih znamk, ki pri proizvodnji poudarja uporabo islandske vode in lokalnega vulkanskega kamna. Poudarjajo tudi, da je njihov EGF rastlinskega izvora in ne živalskega ali bakterijskega. Kot je razvidno iz zapisa sestavin, je EGF pridobljen iz transgenih rastlin, saj rastline same človeškega EGF ne morejo proizvajati.

Sestavine seruma BioEffect EGF Serum-a so (cena za 15 ml približno 130 €):

INCI: *Glycerin, Aqua, Calciumchloride, Sodiumhyalunorate, Tromethamine, Hordeumvulgare seed extract, Alcohol (less than 0,9 %), Sodiumchloride, EGF (Transgenic barleysh-oligopeptide-1)*

Kozmetična znamka DNA EGF Renewal (<http://dnaegfrenewal.com/>) je podobna znamki BioEffect, pri kateri je dobil navdih dermatolog Moy. Tudi tukaj celotna znamka temelji na EGF, ki je pridobljen iz rastlinskih virov, iz transgenih rastlin.

Sestavine DNA EGF Renewal Growth Factor Serum-a so (cena za 30 ml približno 145 \$):

INCI: *Water, PentyleneGlycol EGF, Acrylates/C10-30 Alkyl AcrylateCrosspolymer, Aminomethyl Propanol, 1, 2-Hexanediol, Caprylyl Glycol, Tropolone, CitricAcid.*

### 5.2.2. KOZMETIČNI IZDELKI Z VEČ RASTNIMI DEJAVNIKI

Kozmetična znamka SkinMedica (<http://www.skinmedica.com>) ima v nekaterih svojih izdelkih mešanico TNS (Tissue Nutrient Solution) oziroma medij s človeškimi fibroblasti (Human Fibroblast Conditioned Media), ki je raztopina z različnimi rastnimi dejavniki.

Eden od izdelkov, TNS Recovery Complex<sup>®</sup> (cena za 18 g približno 175 \$), ki so ga tudi uporabili v kliničnih študijah, ima naslednje sestavine:

INCI: *Human Fibroblast ConditionedMedia, Isoceteth-20, Ethoxydiglycol, Acrylates/C10-30 AlkylAcrylateCrosspolymer, AminomethylPropanol, Disodium EDTA, Phenoxyethanol, Methylparaben, Propylparaben, Isobutylparaben, Butylparaben, Ethylparaben, Parfum/Fragrance, Hydroxycitronellal, Linalool, Coumarin, Alpha-IsomethylIonone, Geraniol, Isoeugenol.*

Pri študiji, ki so jo izvedli leta 2002 in pri tem uporabili kozmetiko SkinMedica, in sicer izdelek TNS Recovery Complex, so navedli, da njihova formulacija vsebuje približno 20–30 ng/ml TGF- $\beta$  (28).

Kozmetična znamka Neocutis (<http://www.neocutis.com/>) ima v nekaterih kozmetičnih izdelkih patentirano kozmetično sestavino PSP (Processed Skin Cell Proteins), za katero navajajo, da je mešanica človeških rastnih dejavnikov in citokinov, pridobljena z biotehnološkimi procesi iz kultiviranih človeških fibroblastov.

Njihov prvi izdelek je bila krema BIO-CREAM Bio-Restorative Skin Cream with PSP<sup>®</sup>, katere sestavine so naslednje:

INCI: *Water (Aqua), Octyldodecanol, GlycerylStearate, Decyl Oleate, Glycerin, PropyleneGlycol, Wheat Germ Oil (TriticumVulgare), StearicAcid, CetylAlcohol, Ceteareth-20, ProcessedSkinProteins (PSP<sup>®</sup>), Myreth-3 Myristate, Ceteareth-12, CetearylAlcohol, Cetyl Palmitate, Tocopheryl Acetate, Dimethicone, Borage SeedOil (Borago Officinalis), Carbomer, Triethanolamine, Methylparaben, Propylparaben, Glycosphingolipids, Phenoxyethanol, Disodium EDTA, BHT, Ethylparaben, Butylparaben, Methylisothiazolinone, Methylchloroisothiazolinone.*

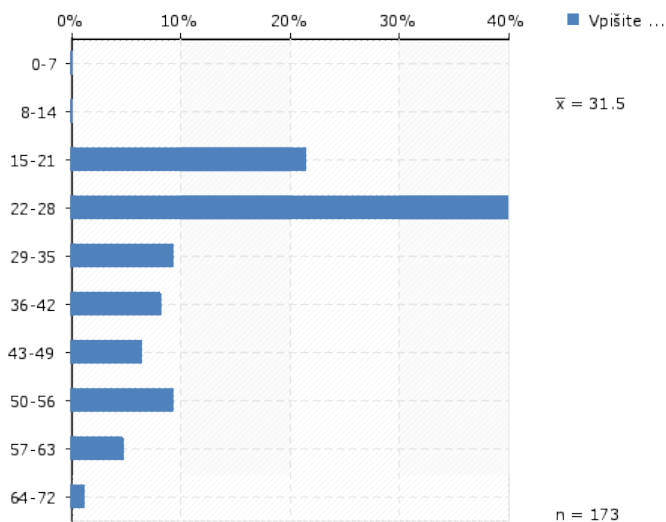
## **5.3. ANKETIRANJE**

### **5.3.1. UPORABA IN POZNAVANJE RASTNIH DEJAVNIKOV V LAIČNI JAVNOSTI**

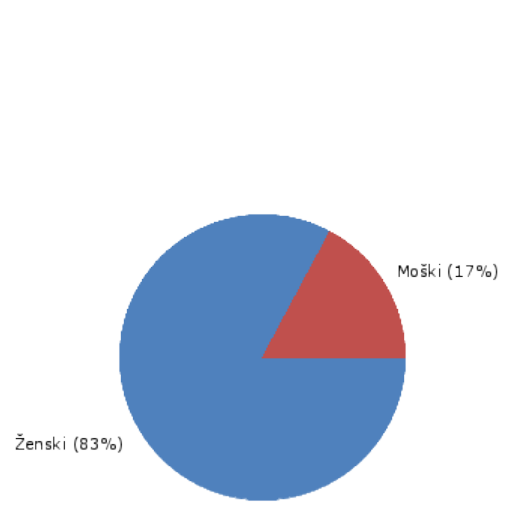
Na socialnih omrežjih in spletnih forumih smo izvedli spletni vprašalnik, ki so ga izpolnili naključni anketiranci. Število anketirancev je 187, a ankete niso vsi izpolnili v celoti. Vseh

vprašanj namreč nismo označili kot obveznih, saj nismo želeli, da anketiranci zaradi obveznih vprašanj predčasno prekinejo anketo. Zato je bilo vprašanje »Ali ste že kdaj uporabljali kozmetiko, ki vsebuje rastne dejavnike?« obvezno, pri vprašanju »Ali poznate anti-aging kozmetiko, ki vsebuje rastne dejavnike?« pa je bilo samo opozorilo. Pri posameznem vprašanju je lahko število vseh odgovorov različno, kar je razvidno iz nadaljnje analize.

Demografski podatki so prikazani na spodnjih slikah (Slika 1, 2, 3). Starost anketirancev je med 17 in 72 leti, prevladuje starostna skupina od 22 do 28 let (40 %), sledi starostna skupina od 15 do 21 let. Med anketiranci prevladuje ženski spol (143 od 173). Anketo smo namreč objavili na spletnih forumih s temami o kozmetiki, negi obraza in podobnem, ki jih večinoma obiskujejo ženske. Največ anketirancev ima dokončano štiriletno srednjo šolo (87 od 174).

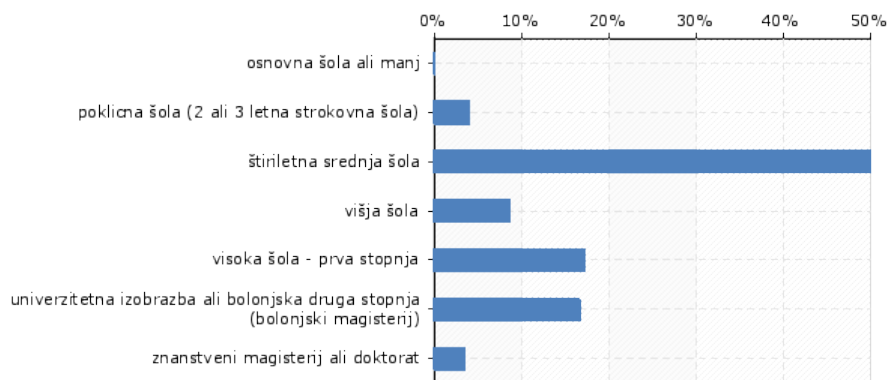


Slika 1: Starost anketirancev



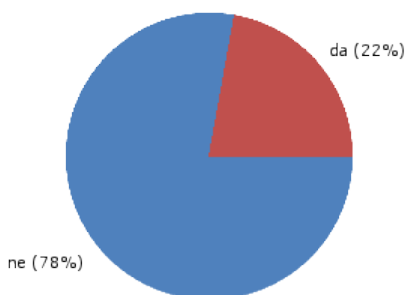
Slika 2: Spol anketirancev

Med vprašanimi jih kozmetiko za nego zrele kože uporablja 18 % (34 od 187). Od teh 34 jih je 10 že uporabljajo kozmetične izdelke z rastnimi dejavniki. Med vsemi anketiranimi kozmetiko z rastnimi dejavniki pozna 22 %, kar je 42 od 188 anketiranih (Slika 4). Med vsemi vprašanimi jo je uporabljalo 13 % vprašanih (24 oseb od 186) (Slika 5), ki so jo večinoma kupili v lekarni ali drogeriji, ena anketiranka jo je kupila preko interneta, ena jo je dobila kot darilo, pri eni anketiranki ti podatki o tem niso znani.

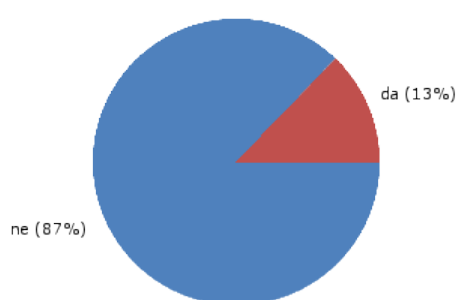


**Slika 3: Formalna izobrazba anketirancev**

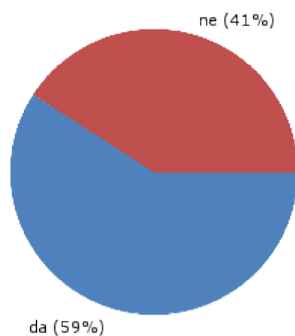
Uporabljali so jo 3 moški in 19 žensk, ki so bili v povprečju stari 33,9 let. Večina je imela dokončano srednjo šolo (7 oseb) ali visoko šolo – prvo stopnjo (6 oseb), tako da svojega šolanja morda še niso zaključili. Naslednji najpogostejši odgovor je bil dokončana univerzitetna izobrazba (4 osebe), sledi dokončana višja šola (3 osebe). Kljub nepoznavanju rastnih dejavnikov je bila po kratkem opisu le-teh večina zainteresirana za nakup (59 %, 104 od 176) (Slika 6). Ker je tudi na internetu možno prebrati različna mnenja in pomisleke o uporabi rastnih dejavnikov, nas je zanimalo, kaj anketiranci menijo o neželenih učinkih. 55 % vprašanih (96 od 176) meni, da ima uporaba rastnih dejavnikov lahko tudi neželene učinke, 43 % (75 oseb od 176) je odgovorilo, da ne ve, 3 % (5 oseb) so prepričani, da neželenih učinkov ni (Slika 7).



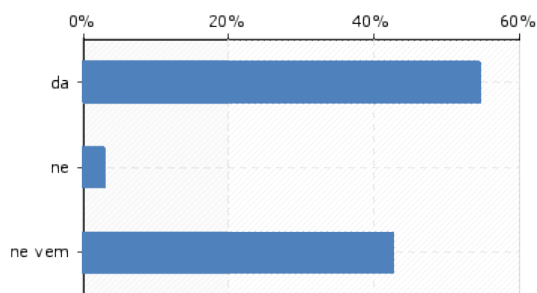
**Slika 4: Poznavanje kozmetike z rastnimi dejavniki (v %)**



**Slika 5: Uporaba kozmetike z rastnimi dejavniki (v %)**



Slika 6: Zanimanje za uporabo kozmetike z rastnimi dejavniki (v %)



Slika 7: Mnenje o negativnih učinkih kozmetike z rastnimi dejavniki (v %)

## 5.4. UPORABA IN POZNAVANJE RASTNIH DEJAVNIKOV V STROKOVNI JAVNOSTI

### 5.4.1. ANKETIRANJE STROKOVNJAKOV – DERMATOLOGOV

Za strokovno javnost smo smatrali dve skupini: dermatologe, ki se ukvarjajo z estetsko dermatologijo, in študente kozmetologije, bodoče strokovnjake na področju kozmetičnih izdelkov. Pri slovenskih dermatologih je mnenje o uporabi rastnih dejavnikov v kozmetične namene deljeno. Nekateri jih poznajo, jih uporabljajo in so zadovoljni z njihovim učinkom. Drugi jih kot kozmetično aktivno sestavino ne poznajo oziroma so o tem ozaveščeni le deloma in je njihovo mnenje o njihovem učinku negativno.

Pri anketi je sodelovalo 11 dermatoloških in medicinskih centrov, a niso vsi izpolnili ankete v celoti. Tudi pri tej anketi vsa vprašanja niso bila obvezna, zato so anketiranci določena vprašanja izpustili. Od 11 dermatoloških centrov 4 uporabljajo rastne dejavnike, 7 centrov jih ne uporablja. Za vsako od teh dveh skupin smo imeli pripravljena dva sklopa vprašanj, ki sta se razlikovala glede na njihov prvi odgovor, torej ali rastne dejavnike uporabljajo ali ne.

Na prvo vprašanje, ali pri svojem delu uporabljajo rastne dejavnike za dermalno uporabo, so 4 od 11 potrdili uporabo. Ti uporabljajo različne kozmetične znamke, kot so SkinMedica, Reviderm, Phytosintesis. Večinoma so to izdelki, ki jih uporabniki uporabljajo doma sami, tako da se z njimi v dermatoloških centrih večinoma ne rokujejo. Trije dermatologi (od 4) jih uporabljajo v kombinaciji z drugimi posegi (kisikova terapija, pomlajevanje z IPL + RF tehnologijo, pomlajevanje z LPG – Lipomassage tretma). Kombinacija z drugimi posegi je razlog, zakaj kozmetične izdelke z rastnimi dejavniki uporabniki uporabljajo doma, saj je to neke vrste dopolnilna nega, ki lahko pripomore k hitrejšemu okrevanju. Povpraševanja uporabnikov po rastnih dejavnikih ni veliko, dermatologi so ga ocenili z oceno 3,3 (na lestvici



od 0 do 10). Zadovoljstvo uporabnikov so ocenili z oceno 5,3 (na lestvici od 0 do 10). Zato v dveh dermatoloških centrih od treh pravijo, da te metode ne bi priporočili ljudem s previsokimi pričakovanji. V enem od dermatoloških centrov so ocenili, da maksimalen učinek v najboljšem primeru ne presega 20 % izboljšanja določenih parametrov, tako da je edina omejitev pri uporabi uporabnik sam. Metoda ni primerna za tiste, ki želijo takojšnji in zelo opazen rezultat. Glede na to, da smo se v diplomski nalogi ukvarjali z vprašanji varnosti in stabilnosti rastnih dejavnikov, nas je zanimalo, kaj o tem menijo strokovnjaki. V enem dermatološkem centru od treh, ki so na ta vprašanja odgovorili, te kozmetične izdelke shranjujejo pod posebnimi pogoji shranjevanja, vendar niso povedali, kateri so ti pogoji. Pri dveh od treh uporabnika seznanijo s potencialnimi neželenimi učinki. Razlog, zakaj ostali tega ne počnejo, je lahko v neinformiranosti.

7 od 11 dermatoloških ali medicinskih centrov je odgovorilo, da rastnih dejavnikov pri svojem delu ne uporabljajo. Od teh 7 so 4 nadaljevali z vprašalnikom. Kot razlog, zakaj jih ne uporabljajo, so navedli, da jih ne poznajo ali da ni ustreznega učinka. Večinoma ne poznajo kozmetičnih znamk na tržišču, ki bi vsebovale rastne dejavnike. En dermatolog je odgovoril, da pozna znamko SkinMedica. Ta dermatološki center, ki je odgovoril, da jih sicer poznajo, a da nimajo učinka, navaja tudi, da je terapija z rastnimi dejavniki predraga. V dermatoloških centrih, kjer rastnih dejavnikov ne uporabljajo, tudi ni povpraševanja uporabnikov po izdelkih z rastnimi dejavniki.

Veliko bolj razširjena kot metoda pomlajevanja z dermalno nanesenimi rastnimi dejavniki je metoda pomlajevanj z lastno plazmo. Kot smo že zapisali v poglavju o opisu te metode, so rastni dejavniki tu vneseni endogeno; s tem, ko uporabniku vbrizgajo trombocite, se začnejo proizvajati rastni dejavniki. Tudi o tej metodi so mnenja različna. V 3 dermatoloških centrih od 7, ki so odgovorili, to metodo prakticirajo, njihovo mnenje je pozitivno, pravijo, da gre za učinkovito metodo, ki ima dolgotrajni učinek, da pa rezultati niso takojšnji. Metodo predlagajo uporabnikom, ki želijo osvežitev, predvsem tistim, ki so izpostavljeni dejavnikom okolja (pri svojih poklicih) in kajenju. Metoda spada med novejše, lahko da je uporabniki ne poznajo dobro, saj so dermatologi povpraševanje po njej ocenili z oceno 3,5 (na lestvici od 0 do 10). Dermatološki centri, ki te metode ne uporabljajo (4 dermatološki centri), menijo, da zanesljivih dokazov o učinkih ni in da obstajajo drugi postopki z boljšim ter hitrejšim učinkom.

#### **5.4.2. ANKETIRANJE ŠTUDENTOV KOZMETOLOGJE**

Z rastnimi dejavniki v kozmetičnih izdelkih smo se večkrat srečali med študijem, tako da nas je zanimalo, kakšno mnenje so si o njih ustvarili študenti kozmetologije. Pri anketi je sodelovalo 54 študentov, v celoti jo je izpolnilo 44 študentov. Anketo so reševali študentje vseh letnikov. Največ je bilo študentov 1. letnika (15 študentov), 12 študentov je bilo iz 2. letnika, sledi 3. letnik z 9 študenti in 8 absolventov. Ker so na študijski program kozmetologija vpisane predvsem ženske, se to odraža v številu anketirancev ženskega spola, in sicer je anketo rešilo 43 žensk in 1 moški anketiranec.

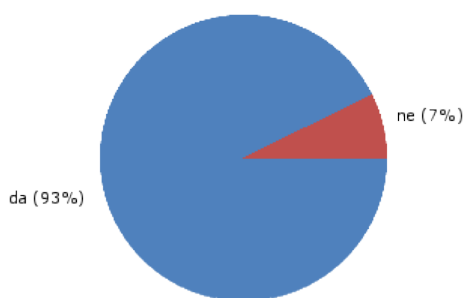
Od 54 študentov jih 45 pozna kozmetiko, ki vsebuje rastne dejavnike. Trije študentje so že uporabljali kozmetiko z rastnimi dejavniki, kupili so jo v lekarni ali drogeriji, en anketiranec jo je dobil preko sodelovanja s podjetjem iz Italije. Ker smo pričakovali, da večina študentov kozmetičnih izdelkov z rastnimi dejavniki še ni uporabljala, nas je zanimalo, ali bi jih taki izdelki zanimali in ali bi jih glede na svoje znanje o njih uporabljali sami. 41 študentov od 51 jih je odgovorilo, da bi izdelke uporabljali. Glede na to, da se bodo študenti kozmetologije pri svojem bodočem delu ukvarjali s kozmetičnimi izdelki, sodelovali pri njihovi izdelavi, formulaciji, pri svetovanju o kozmetičnih izdelkih ali kaj podobnega, nas je zanimalo, ali bi anketiranci pri tem uporabili rastne dejavnike. Večina študentov bi jih pri svojem delu uporabljala, to je 42 od 45 anketirancev (Slika 8). Na vprašanje, komu bi uporabo rastnih dejavnikov priporočali, so bili najpogostejši naslednji odgovori:

- ljudem z zrelo kožo, ki bi radi kožo pomladili,
- ljudem, ki bi radi osvežili kožo, tudi če niso v zrelih letih,
- ljudem z zrelo, a nepoškodovano kožo.

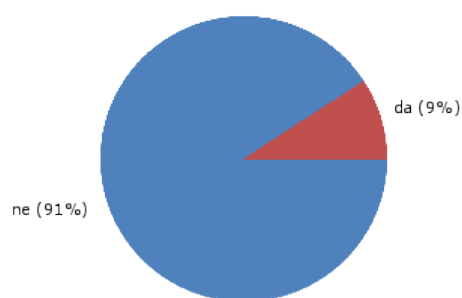
Zanimalo nas je, komu uporabe rastnih dejavnikov ne bi priporočili. Najpogostejši so bili naslednji odgovori:

- mladim ljudem (do 30 leta),
- ljudem s kožnimi obolenji,
- ljudem z občutljivo kožo.

Odgovori študentov so se torej malo razlikovali od odgovorov dermatologov. Dermatologi so na vprašanje, komu rastnih dejavnikov ne bi priporočili, dali poudarek na nerealna pričakovanja uporabnikov. V mislih so imeli povprečne uporabnike, ki se odločijo za metode pomlajevanja kože, zato so že sklepali, da je oseba v zrelih letih. Na drugi strani so študentje razmišljali o neželenih učinkih rastnih dejavnikov in njihovo uporabo odsvetovali ljudem s kožnimi obolenji ali občutljivo kožo.

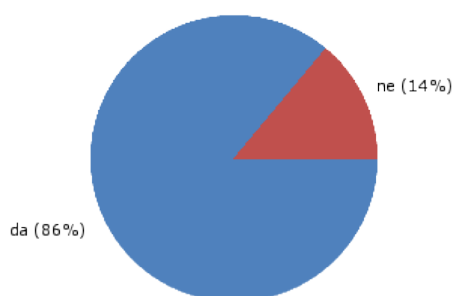


**Slika 8: Uporaba rastnih dejavnikov za pomlajevanje kože pri bodočem delu (v %)**

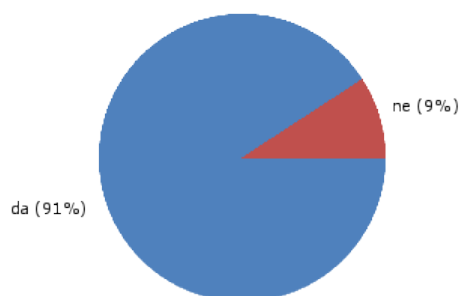


**Slika 9: Mnenje o zadostnem številu kvalitetnih raziskav in kliničnih študij na področju rastnih dejavnikov (v %)**

Velik del diplomske naloge je bil pregled kliničnih študij, ki so bile narejene na področju rastnih dejavnikov. Pri tem smo ugotovili, da opravljenih kliničnih študij ni veliko. Zato smo študente vprašali, ali menijo, da je bilo na tem področju narejenih zadostno število kvalitetnih raziskav in kliničnih študij. 4 so odgovorili pritrdilno, 41 pa jih meni, da temu ni tako (Slika 9). Kljub temu da večina meni, da ni dovolj raziskav in kliničnih študij, jih 72 % meni, da so pri pomlajevanju kože rastni dejavniki učinkoviti (39 študentov od 45) (Slika 10). 76 % (41 študentov od 45) jih meni, da ima uporaba rastnih dejavnikov tudi neželene učinke (Slika 11).



**Slika 10: Učinkovitost rastnih dejavnikov pri pomlajevanju kože (v %)**



**Slika 11: Mnenje o neželenih učinkih uporabe rastnih dejavnikov (v %)**

Na vprašanje »Ali mislite, da je potrebno kozmetične izdelke z rastnimi dejavniki shranjevati pod kakšnimi posebnimi pogoji shranjevanja? Kakšnimi?« so odgovorili z naslednjimi odgovori:

- pogoji shranjevanja, v katerih proteini ne denaturirajo (ustrezen pH, nizke temperature, zaščiteno pred zrakom in svetlobo),
- odvisno od sestavin,
- ne potrebujejo posebnih pogojev (izdelke smo zasledili na običajnih mestih prodaje),
- ne vem, nimam dovolj podatkov, znanja.

## 6. SKLEP

Za namen diplomske naloge smo preverili dostopne klinične študije, ki se ukvarjajo z učinkovitostjo, varnostjo, stabilnostjo rastnih dejavnikov. Po pregledu kliničnih študij smo prišli do naslednjih sklepov:

1. Na področju učinkovitosti je narejenih nekaj študij, ki potrjujejo učinkovitost rastnih dejavnikov. Študije so lahko pristranske, saj so večinoma financirane s strani proizvajalcev, metode vrednotenja so subjektivne (ocena samih udeležencev).
2. Na področju varnosti in penetracije ni opravljenih znanstvenih kliničnih študij, namesto tega jih raziskovalci primerjajo z uporabo rastnih dejavnikov v zdravstvene namene, kjer pa se rastne dejavnike uporablja pod drugačnimi pogoji.
3. Proizvajalci ne navajajo, kakšna je vsebnost uporabljenih rastnih dejavnikov, potrebna bi bila večja transparentnost.
4. Potrebne so objektivne, randomizirane, znanstvene klinične študije, dvojno slepe in z uporabo placebo izdelka, ki bi jih opravili neodvisni strokovnjaki.

Izvedli smo vprašalnike, s pomočjo katerih smo o rastnih dejavnikih vprašali splošno laično populacijo, dermatologe in študente kozmetologije. Na podlagi odgovorov smo prišli do naslednjih sklepov:

1. Splošna populacija rastnih dejavnikov ne pozna dobro (pozna jih 22 %), uporabljalo jih je 13 % vprašanih. Nepoznavanje rastnih dejavnikov kaže tudi to, da 43 % vprašanih ne ve, ali bi rastni dejavniki lahko imeli neželene učinke.
2. Pri slovenskih dermatologih je mnenje deljeno. 4 vprašani dermatološki centri jih uporabljajo in so zadovoljni z rezultatom, kljub temu pa povpraševanje ni veliko. Ostalih 7 centrov jih ne pozna dobro ali niso zadovoljni z učinkom.
3. Mnenja o metodi pomlajevanja z lastno plazmo so med dermatologi deljena, nekateri jo uporabljajo in priporočajo, drugi je zaradi nezadostnega učinka ne uporabljajo.
4. Študentje kozmetologije so o rastnih dejavnikih v kozmetiki seznanjeni, večina bi jih za pomlajevanje kože uporabljala pri svojem bodočem delu.
5. Študentje bi uporabo priporočili ljudem z zrelo kožo, ki bi radi pomladili in osvežili kožo. Uporabo bi odsvetovali mladim ali tistim z občutljivo kožo ali kožnimi obolenji.
6. Študentje so seznanjeni z neželenimi učinki. Menijo, da na tem področju ni dovolj kvalitetnih znanstvenih študij.

## 7. VIRI

1. **Štiblar Martinčič, Draga, in drugi.** *Anatomija, histologija, fiziologija*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, 2008. ISBN 978-961-267-000-9.
2. **Jenkins, Gail.** Molecular mechanisms of skin ageing. s.l.: Elsevier Science Ireland, 2002.
3. **Baumann, L.** Skin ageing and its treatment. *Journal of Pathology*. 211, 2007, 241–251.
4. **Kosmadaki, M. G., in Gilchrest, B. A.** The role of telomeres in skin aging/photoaging. *Micron*. 2004, Zv. 35, 155–159.
5. *Vpliv ultravijoličnega sevanja na kožo: morfološko-klinično-praktični vidiki.* **Žgavec, Borut.** Ljubljana: Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani, 2012. ISBN 978-961-6378-47-5.
6. **Sundaram, Hema, in drugi.** Topically applied physiologically balanced growth factors: a new paradigm of skin rejuvenation. *Journal of Drugs in Dermatology*. 8, 2009, Zv. 5.
7. **Enoch, Stuart, in Leaper, David John.** Basic science of wound healing. s.l.: Elsevier Ltd., 2007.
8. **Li, Jie, Chen, Juan, in Kirsner, Robert.** Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*. s.l.: Elsevier, 2007.
9. **Berlanga-Acosta, Jorge, in drugi.** Epidermal growth factor in clinical practice - a review of its biological actions, clinical indications and safety implications. *International Wound Journal*. 2009, Zv. 6, 5.
10. **Stadelmann, Wayne K., Digenis, Alexander G., in Tobin, Gordon R.** Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *The American Journal of Surgery*. 176, 1998, Zv. 2A.
11. **Barrientos, Stephan, in drugi.** Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2008, Zv. 16, 585–601.
12. **Rangarajan, Vijayeta, in Dreher, Frank.** Topical growth factors for skin rejuvenation. [avt. knjige] M.A. Farah, K.W. Miller in H.I. Maibach. *Textbook of Aging Skin*. Berlin: Springer, 2010.
13. **Knighton, David R., in drugi.** Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. *Annals of Surgery*. 204, 1986, Zv. 3, 322–330.
14. **Puolakkainen, Pauli A., in drugi.** The enhancement in wound healing by transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) depends on the topical delivery system. *Journal of Surgical Research*. 58, 1995, Zv. 3, 321–329.

15. **Brown, Gregory L., in drugi.** Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic epidermal growth factor. *The Journal of Experimental Medicine*. 163, 1986, Zv. 5, 1319–1324.
16. **Brown, Gregory L., in drugi.** Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *The New England Journal of Medicine*. 321, 1989, 76–79.
17. **Tsang, Man Wo, in drugi.** Human epidermal growth factor enhances healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*. 26, 2003, Zv. 6, 1856–1861.
18. **Werner, Sabinr, in Grose, Richard.** Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*. 83, 2003, 835–870.
19. **Nagai, M. K., in Embil, J. M.** Becaplermin: recombinant platelet derived growth factor, a new treatment for healing diabetic foot ulcers. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2, 2002, 211–218.
20. **Margolis, David J., in drugi.** Effectiveness of recombinant human platelet-derived growth factor for the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers. *Wound Repair and Regeneration*. 13, 2005, Zv. 6.
21. **Park, Byung-Soon, in KIm, Won-Serk.** Adipose-derived stem cells and their secretory factors for skin aging. [avt. knjige] M.A. Farage, K.W. Miller in H.I. Maibach. *Textbook of Aging Skin*. Berlin: Springer, 2010.
22. **Park, Byung-Soon, in drugi.** Adipose-derived stem cells and their secretory factors as promising therapy for skin aging. *Dermatologic surgery*. 34, 2008, Zv. 10, 1323–1326.
23. **Goodsell, David S.** The molecular perspective: epidermal growth factor. *The Oncologist*. 8, 2003, 496–497.
24. **Abramovitch, R., in drugi.** Stimulation of tumour growth by wound-derived growth factors. *British Journal of Cancer*. 79, 1999, Zv. 9/10, 1392–1398.
25. **Shi, H. X., in drugi.** The anti-scar effects of basic fibroblast growth factor on the wound repair in vitro and in vivo. *Plos One*. 8, 2013, Zv. 4.
26. **Hussain, Mussarrat, Phelps, Robert, in Goldberg, David J.** Clinical, histologic, and ultrastructural changes after use of human growth factor and cytokine skin cream for the treatment of skin rejuvenation. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 10, 2008, 104–109.
27. **Proteini, peptidi in rastni dejavniki v aktivni negi kože.** **Kocbek, Petra.** Ljubljana: Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani, 2012. ISBN 978-961-6378-47-5.
28. **Fitzpatrick, Richard E., in Rostan, Elizabeth F.** Reversal of photodamage with topical growth factors: a pilot study. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 5, 2003, 25–34.

- 29. Benson, Heather A. E., in Namjoshu, Sarika.** Proteins and Peptides: Strategies for delivery to and across the skin. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 97, 2008, Zv. 9.
- 30. Atkin, Deborah H., in drugi.** Combination of physiologically balanced growth factors with antioxidants for reversal of facial photodamage. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy.* 12, 2010, Zv. 1.
- 31. Gold, Michael H., Goldman, Mitchel P., in Biron, Julie.** Efficacy of novel skin cream containing mixture of human growth factors and cytokines for skin rejuvenation. *Journal of Drugs in Dermatology.* 6, 2007, Zv. 2, 197–201.
- 32. —.** Human growth factor and cytokine skin cream for facial skin rejuvenation as assessed by 3D in vivo optical skin imaging. *Journal of Drugs in Dermatology.* 6, 2007, Zv. 10, 1018–1023.
- 33. Lupo, Mary P., Cohen, Joel L., in Rendon, Marta I.** Novel eye cream containing a mixture of human growth factors and cytokines for periorbital skin rejuvenation. *The Journal of Drugs in Dermatology.* 6, 2007, Zv. 7.
- 34. Mehta, Rahul C., in drugi.** Reduction in facial photodamage by topical growth factor product. *Journal of Drugs in Dermatology.* 7, 2008, Zv. 9, 864–871.
- 35. Ehrlich, Michelle, in drugi.** Improvement in the appearance of wrinkles with topical transforming growth factor  $\beta$ 1 and L-ascorbic acid. *Dermatologic Surger.* 32, 2006, Zv. 5, 618–625.
- 36. Schouest, Jonathan M., Luu, Teresa K., in Moy, Ronald L.** Improved texture and appearance of human facial skin after daily topical application of barley produced, synthetic, human-like epidermal growth factor (EGF) serum. *Journal of Drugs in Dermatology.* 11, 2012, Zv. 5.
- 37. Gold, Michael H., in drugi.** Human growth factor cream and hyaluronic acid serum in conjunction with micro laser peel: an efficient regimen for skin rejuvenation. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology.* 3, 2010, Zv. 12.
- 38. Omi, T., in drugi.** Histological evidence for skin rejuvenation using a combination of pneumatic energy, broadband light, and growth factor therapy. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy.* 12, 2010, Zv. 5, 222–226.
- 39. Hagens Berman: Pharmaceutical Company SkinMedica Selling Misbranded Drug Products as Cosmeceuticals.**

## 8. PRILOGE

### 8.1. PRILOGA 1: ANKETA ZA SPLOŠNO POPULACIJO

Pozdravljeni!

Sem Anja Mestnik, absolventka kozmetologije, in pišem diplomsko nalogo o rastnih dejavnikih, trenutno zelo aktualnih sestavinah kozmetičnih izdelkov z učinkom proti staranju. Za potrebe diplomske naloge bi rada izvedela, kakšno je poznavanje ljudi o teh kozmetično aktivnih sestavih, zato bi Vas prosila, če lahko izpolnite kratko anketo.

1. Ali uporabljate anti-aging kozmetiko oziroma kozmetične izdelke proti staranju?
  - a) da
  - b) ne
2. Ali poznate anti-aging kozmetiko, ki vsebuje rastne dejavnike\*?
  - a) da
  - b) ne

\*Rastni dejavniki ali celični/rastni aktivatorji so regulatorni proteini, ki vplivajo na rast, diferenciacijo in množenje celic. V koži so naravno prisotni, imajo pomembno vlogo pri celjenju ran. Zaradi njihove sposobnosti preoblikovanja kože, spodbujanja nastajanja zunajceličnega ogrodja in nastajanja kolagena ter hialuronske kisline se je pojavilo veliko zanimanje za njihovo uporabo v kozmetičnih izdelkih za aktivno nego proti staranju. Na tržišču je že kar nekaj izdelkov, ki vsebujejo te rastne dejavnike, tudi klinične raziskave, ki so bile opravljene, kažejo na obetavne rezultate. Gre za luksuzno kozmetiko višjega cenovnega razreda, večinoma so to kreme ali serumi, ki vsebujejo mešanico ali pa posamezen rastni dejavnik (npr. EGF – epidermalni rastni dejavnik, TGF- $\beta$  – transformirajoči rastni dejavnik beta, FGF – fibroblastni rastni dejavnik)

3. Ali ste že kdaj uporabljali kozmetiko, ki vsebuje rastne dejavnike?
  - a) da
  - b) ne
4. Če da, kje ste jo kupili?
  - a) pri dermatologu
  - b) preko interneta
  - c) v lekarni, drogeriji
  - d) drugo:
5. Ali bi vas po prebranem zanimala uporaba rastnih dejavnikov v anti-aging negi?
  - a) da
  - b) ne
6. Ali mislite, da ima lahko uporaba rastnih dejavnikov tudi neželene učinke?
  - a) da
  - b) ne
  - c) ne vem

Demografski podatki:

Spol:

- a) moški
- b) ženski



Koliko ste stari?

Kakšna je vaša najvišja dosežena formalna izobrazba?

- a) osnovna šola ali manj
- b) poklicna šola (2- ali 3-letna strokovna šola)
- c) štiriletna srednja šola
- d) višja šola
- e) visoka šola – prva stopnja
- f) univerzitetna izobrazba ali bolonjska druga stopnja (bolonjski magisterij)
- g) znanstveni magisterij ali doktorat

Odgovorili ste na vsa vprašanja v tej anketi. Hvala za sodelovanje.

## 8.2. PRILOGA 2: ANKETA ZA DERMATOLOGE

Pozdravljeni!

Sem Anja Mestnik, absolventka kozmetologije, in pišem diplomsko nalogo o rastnih dejavnikih, trenutno zelo aktualnih sestavinah kozmetičnih izdelkov z učinkom na zrelo kožo. Za potrebe diplomske naloge bi rada izvedela, kakšna je uporaba in povpraševanje po kozmetiki z rastnimi dejavniki v Sloveniji. Prosila bi, če si vzamete nekaj minut in s klikom na Naslednja stran pričnete z izpolnjevanjem ankete.

1. Ali v vašem centru uporabljate kozmetiko z rastnimi dejavniki/celičnimi aktivatorji (growth factors), za dermalno uporabo?
  - a) da
  - b) ne
- 2a. Katero kozmetično znamko uporabljate?
  - a) SkinMedica
  - b) Reviderm
  - c) Bio Effect
  - d) drugo:
- 3a. Kako pogosto uporabljate te izdelke na vaših uporabnikih? Ocenite:
  - a) 1x tedensko
  - b) 2–3x na teden
  - c) 1x na mesec
  - d) 2–3x na mesec
  - e) nekajkrat na leto
  - f) drugo:
- 4a. Ali izdelke z rastnimi dejavniki uporabljate v kombinaciji z drugimi estetskimi posegi?
  - a) ne
  - b) da, naštejte te posege, ki jih uporabljate:
- 5a. Kakšno je povpraševanje po kozmetiki z rastnimi dejavniki? (ocena od 1 do 10)
- 6a. Kakšen je odziv uporabnikov? Kako so zadovoljni od 1 do 10?
- 7a. Katerim osebam bi priporočali to metodo pomlajevanja? Komu tega ne bi priporočali?

- 8a. Ali te kozmetične izdelke shranjujete pod kakšnimi posebnimi pogoji shranjevanja? Kakšnimi?
- 9a. Ali končne uporabnike seznanite s potencialnimi neželenimi učinki?
- 10a. Ali bi uporabnikom mogoče predlagali uporabo izdelkov z rastnimi dejavniki, preden se odločijo za bolj invazivne posege?
- 11b. Zaradi katerih razlogov te kozmetike ne uporabljate?
- 12b. Ali poznate/ste seznanjeni z rastnimi dejavniki in njihovim učinkom na kožo?
- 13b. Ali poznate kakšno kozmetično znamko, ki vsebuje rastne dejavnike?
- ne
  - da, katero:
- 14b. Ali se Vam zdi učinek rastnih dejavnikov na zrelo kožo boljši ali slabši kot učinek metod, ki jih trenutno uporabljate?
- rastni dejavniki imajo boljši učinek
  - rastni dejavniki imajo slabši učinek
- 15b. Ali je pri vaših uporabnikih povpraševanje po izdelkih z rastnimi dejavniki?
- da
  - ne
16. Ali izvajate postopek pomlajevanja z lastno plazmo?
- da
  - ne
17. Kakšno je vaše mnenje o metodi pomlajevanje z lastno plazmo?
- 18a. Ali se vam zdi to bolj ali manj učinkovita metoda kot dermalno nanašanje rastnih dejavnikov?
- bolj učinkovita je metoda z lastno plazmo
  - bolj učinkovita je uporaba rastnih dejavnikov
- 19a. Katerim uporabnikom bi priporočali metodo pomlajevanja z lastno plazmo?
- 20a. Kakšno je povpraševanje uporabnikov po tej metodi? (ocena od 1 do 10)
21. Ime vaše ambulante/vašega centra:

Odgovorili ste na vsa vprašanja v tej anketi. Lepo se Vam zahvaljujem za sodelovanje.

### **8.3. PRILOGA 3: ANKETA ZA ŠTUDENTE KOZMETOLOGIJE**

Prosimo, če si vzamete nekaj minut in s klikom na Naslednja stran pričnete z izpolnjevanjem ankete.

- Ali poznate anti-aging kozmetiko (kozmetiko za nego zrele kože), ki vsebuje rastne dejavnike?
  - da
  - ne
- Ali ste že kdaj uporabljali kozmetiko, ki vsebuje rastne dejavnike?
  - da

- b) ne
- 3. Če da, kje ste jo kupili?
  - a) pri dermatologu
  - b) preko interneta
  - c) v lekarni, drogeriji
  - d) drugo:
- 4. Ali bi vas po prebranem zanimala uporaba rastnih izdelkov v kozmetičnih izdelkih?
  - a) da
  - b) ne
- 5. Ali bi pri svojem bodočem delu (izdelava kozmetičnih izdelkov, svetovanje ipd.) uporabili rastne dejavnike za pomlajevanje kože?
  - a) da
  - b) ne
- 6. Komu bi uporabo rastnih dejavnikov priporočili?
- 7. Komu uporabe rastnih dejavnikov ne bi priporočili?
- 8. Ali menite, da je na tem področju narejenih zadostno število kvalitetnih raziskav in kliničnih študij?
  - a) da
  - b) ne
- 9. Ali menite, da so rastni dejavniki pri pomlajevanju kože učinkoviti?
  - a) da
  - b) ne
- 10. Ali mislite, da ima uporaba rastnih dejavnikov tudi neželene učinke?
  - a) da
  - b) ne
- 11. Ali mislite, da je potrebno kozmetične izdelke z rastnimi dejavniki shranjevati pod kakšnimi posebnimi pogoji shranjevanja? Kakšnimi?
- 12. Spol:
  - a) moški
  - b) ženski
- 13. Kateri letnik študija obiskujete?
  - a) prvi letnik
  - b) drugi letnik
  - c) tretji letnik
  - d) absolvent

Odgovorili ste na vsa vprašanja v tej anketi. Hvala za sodelovanje.