

ARGIRELINE® (Lipotec/Espanha)

O hexapeptídeo antiaging da Lipotec

Introdução
Os sinais do envelhecimento

Um dos sinais mais expressivos do envelhecimento cutâneo é a formação de rugas, cuja causa pode ser decorrente de mudanças bioquímicas, histológicas e fisiológicas e que pode ser agravada pela exposição ao ambiente e outros fatores secundários, como movimentos faciais repetitivos causados pela contração dos músculos da face.

A contração mais ou menos intensa desses músculos varia de pessoa para pessoa. No entanto, a estimulação excessiva pode originar rugas ou sinais de expressão, pois ao longo do tempo o músculo torna-se hipertrofiado e adquire um tônus aumentado. Este fenômeno natural faz com que os sulcos e as rugas permaneçam, mesmo quando não se está contraindo o músculo.

Com o passar do tempo, a pele se torna flácida e as rugas se acentuam como marcas profundas.

O fotoenvelhecimento também diminui a elasticidade da pele, e se soma ao processo de envelhecimento natural, interferindo negativamente para o estado geral da pele e sua aparência.

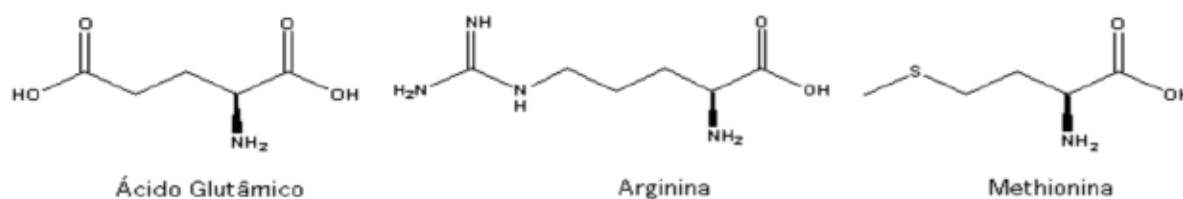
Assim como a toxina botulínica, **Argireline®** supostamente age evitando a liberação de neurotransmissores na junção neuromuscular, prevenindo e reduzindo as linhas e rugas de expressão causadas por movimentos repetitivos - mais especificamente as rugas ao redor dos olhos, lábios, nariz e testa.

Além disso, **Argireline®** estimula o aumento do número de fibroblastos e otimiza a sua formação, reforçando ainda mais o combate ao envelhecimento cutâneo. Desta forma, **Argireline®** garante, também, a reestruturação da pele.

Propriedades

Argireline® é um hexapeptídeo modulador da tensão muscular facial com comprovada atividade redutora de rugas e linhas de expressão, de forma natural e não invasiva.

Os aminoácidos que compõem a cadeia hexapeptídica de **Argireline®** são: ácido glutâmico, metionina e arginina.



Argireline® não altera a função dos músculos responsáveis pelos movimentos faciais, mantendo a naturalidade da expressão da face, além de deixar a pele elástica.

Os fibroblastos presidem a formação das fibras da pele (fibras elásticas, fibras colágenas, etc), e além disso, possuem notória atividade enzimática, o que é essencial para o perfeito metabolismo cutâneo. Estimular a produção de fibroblastos é, portanto, fundamental para a obtenção de uma pele mais sadia, livre de rugas e linhas de expressão. **Argireline®** tem esta propriedade, e por isso se mostra tão eficiente no combate aos sinais de envelhecimento da pele.

Mecanismo de ação preditivo

Na junção neuromuscular ocorre, por exocitose, a liberação de vesículas com o neurotransmissor acetilcolina, responsável pela comunicação celular que resulta em contração muscular.

O tráfego de vesículas de neurotransmissores na fenda sináptica, entre a fibra nervosa e o músculo, é controlada por uma verdadeira maquinaria. Proteínas SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor [NSF] - attachment protein receptor) são componentes essenciais desta maquinaria. Em exocitose de vesículas sinápticas, três proteínas SNARE estão envolvidas: as proteínas associadas à membrana plasmática, syntaxina e SNAP-25 (proteína de 25 KDa associada a sinaptossoma) e a proteína vesicular sinaptobrevina também referida como VAMP (vesicle-associated membrane protein).

O complexo SNARE (receptor SNAP) é essencial para a liberação de neurotransmissores (A Ferrer Montiel et al, The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272, 2634-2638), e desempenha um papel fundamental na fusão de membrana para a formação e liberação do conteúdo vesicular (acetilcolina) na terminação nervosa, com conseqüente condução de impulso nervoso para a contração muscular.

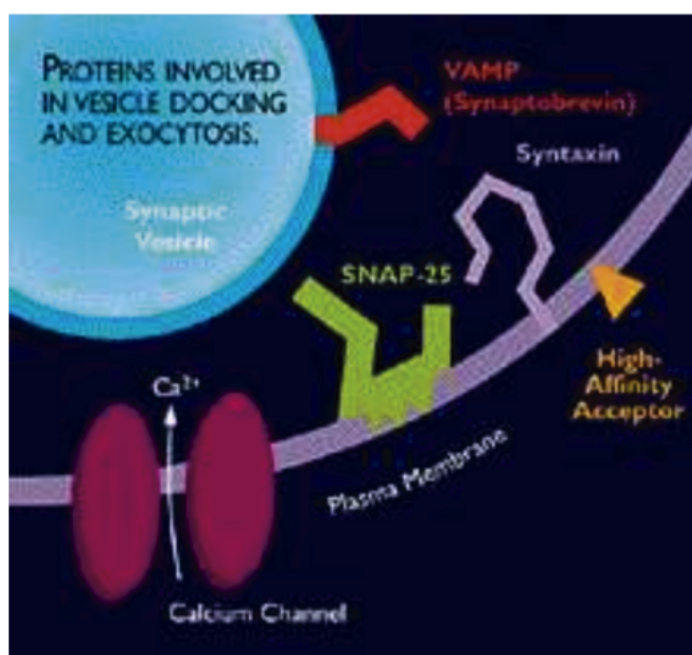


Figura 1. Mecanismo de liberação de um neurotransmissor

Acredita-se que o hexapeptídeo **Argireline®**, por sua semelhança estrutural com o complexo SNARE, compete com o SNAP-25 pela ligação ao complexo SNARE. Se o complexo é levemente desestabilizado, a vesícula fica inapta para liberar eficientemente a acetilcolina e, portanto, a contração muscular é atenuada, prevenindo a formação de linhas e rugas.

A modulação da liberação de neurotransmissores na fenda sináptica por peptídeos sintéticos de cadeia curta como o **Argireline®** foi claramente demonstrado em células cromoafins, através da modulação da superprodução de catecolaminas Adrenalina e Noradrenalina (A Ferrer Montiel, FEBS Letters, 1998, 435,84-88). Apesar das catecolaminas não estarem envolvidas no processo de contração muscular, que é modulado pela secreção de acetilcolina, o teste em células cromoafins extraídas da supra-renal pode ser usado como preditivo para a secreção de acetilcolina, pois o processo de formação de vesícula e estabilidade do complexo SNARE é semelhante.

Com base nos resultados obtidos nesse teste, formulou-se a hipótese do mecanismo de ação do **Argireline®**.

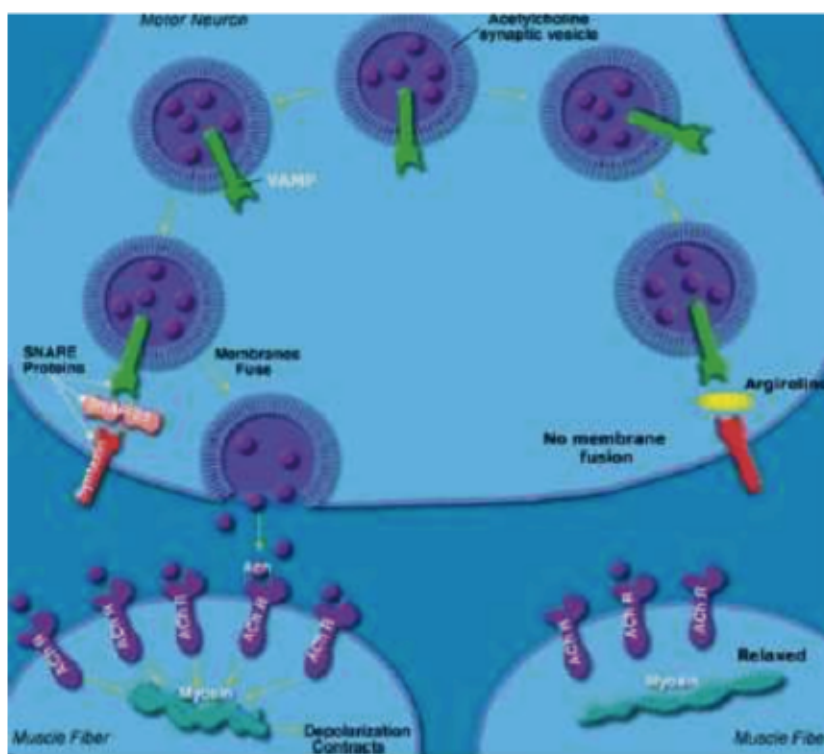
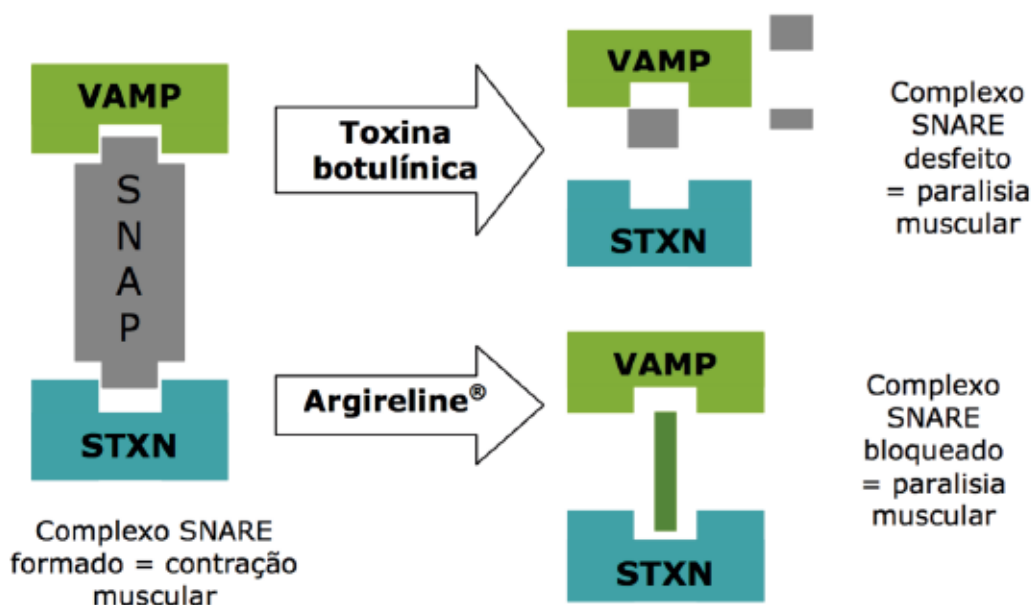


Figura 2. Possível mecanismo de ação de Argireline®.

Argireline® e a toxina botulínica

Argireline® age, supostamente, no mesmo complexo proteico da toxina botulínica, mas de uma forma diferente, de acordo com a representação abaixo:



As diferenças entre o Argireline® e a toxina botulínica

Argireline®

- Argireline® não é invasivo,
- Ausência de efeitos colaterais,
- Isenta possibilidade de reação alérgica.

Toxina botulínica

- A toxina botulínica é injetada no músculo,

- Pode ocorrer equimose (mancha rosa no local da aplicação) e ptose palpebral (pálpebra caída em alguns casos),
- Existe a possibilidade de ocorrer reação alérgica.

Argireline® e a toxina botulínica podem ser utilizados de diferentes maneiras, de acordo com a tabela abaixo:

USO EXCLUSIVO	USO SINÉRGICO	USO EXCLUSIVO
Argireline® pode ser utilizado em regiões onde não se pode aplicar a toxina botulínica - pescoço, base nasal, proximidade das orelhas, etc (onde a injeção causaria dor).	Argireline® é empregado juntamente com a toxina botulínica , o que potencializa* o relaxamento muscular até a próxima aplicação da toxina.	Argireline® é a única opção para pacientes potencialmente alérgicos à toxina .

Evidências clínicas comprovam!

A associação de **Argireline®** com DMAE

Possível mecanismo de ação do DMAE

O processo de envelhecimento diminui a quantidade e o efeito da acetilcolina. A aplicação tópica de DMAE melhora a contração muscular (?) a partir de uma suposta liberação de acetilcolina (?), revertendo o processo de flacidez.

Sabendo-se que o mecanismo de ação de **Argireline®** não leva à contração da musculatura como supostamente possa fazer o DMAE, mas sim ao relaxamento, fica a dúvida se ambos teriam mecanismos antagônicos.

Com base nos supostos mecanismos de ação antagônicos de **Argireline®** (relaxamento muscular) e DMAE® (contração muscular), ressaltamos que a associação de ambos fica exclusivamente a critério médico.

Testes de eficácia

A atividade de **Argireline®** foi determinada por dois testes in vitro e um teste in vivo em voluntárias saudáveis.

Testes in vitro

1. Complexo Modulador de SNARE em células cromoafins

Este teste avalia a modulação de formação do complexo SNARE pelo Argireline®, em comparação a outros derivados peptídicos N-terminais de SNAP-25, em concentrações de grandeza de mM (Figura 1).

Células cromoafins foram preparadas a partir de glândulas adrenais bovinas por digestão de colagenases, e separação de eritrócitos e outras impurezas por centrifugação de gradiente. As células foram mantidas em culturas de monocamadas com uma densidade de 650.000 células/cm².

O complexo ternário de SNARE foi imunoprecipitado a partir de sinaptossomas de cérebro de ratos e incubados com **Argireline®** e outros derivados peptídicos, ou sem eles (como controle). Os imunocomplexos foram analisados utilizando o método SDS-PAGE (4 - 20 %).

Esse teste in vitro demonstrou a atividade de Argireline® na modulação de formação do complexo SNARE, e auxilia na hipótese de seu mecanismo de ação.

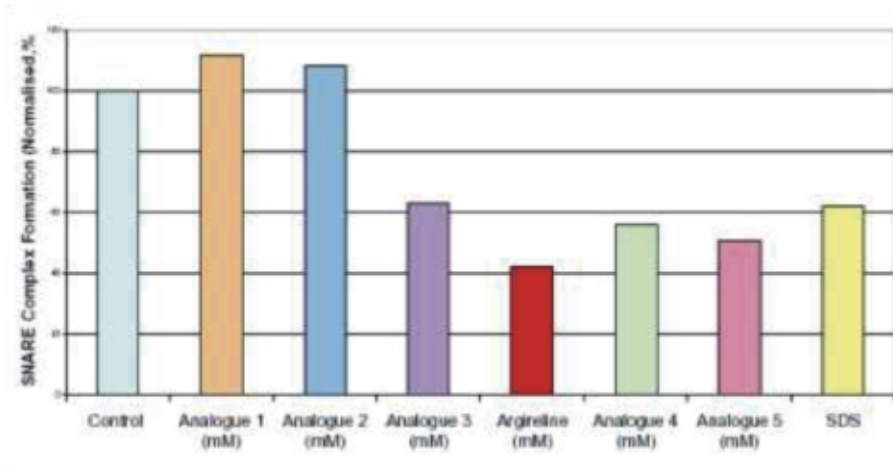


Figura 3. Modulação da formação do complexo SNARE por análogos de peptídios N- terminais SNAP-25.

2. Modulação da liberação de catecolaminas em células cromoafins

A inibição da liberação de catecolaminas foi determinada pelo monitoramento dos neurotransmissores Adrenalina e Noradrenalina. Células Cromoafins foram encubadas com Noradrenalina, Adrenalina e **Argireline®**. A liberação de catecolaminas, tanto quanto o conteúdo total de células, foi determinado por “liquid scintillation counting”.

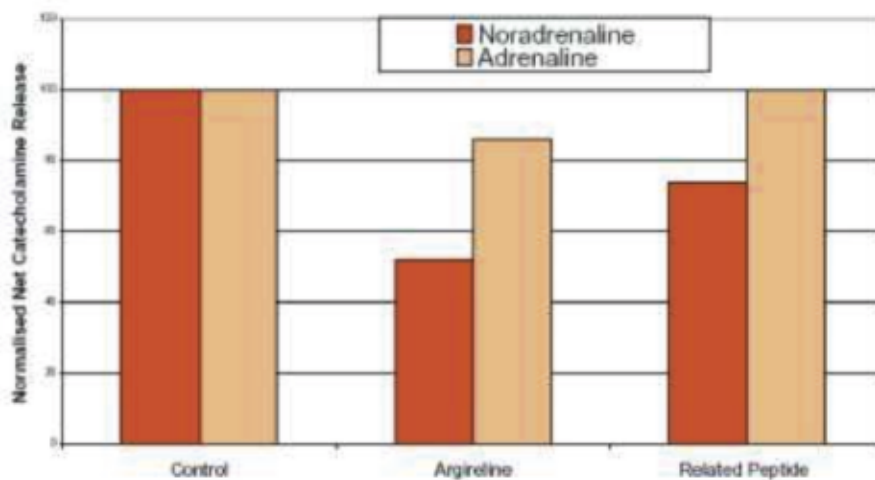


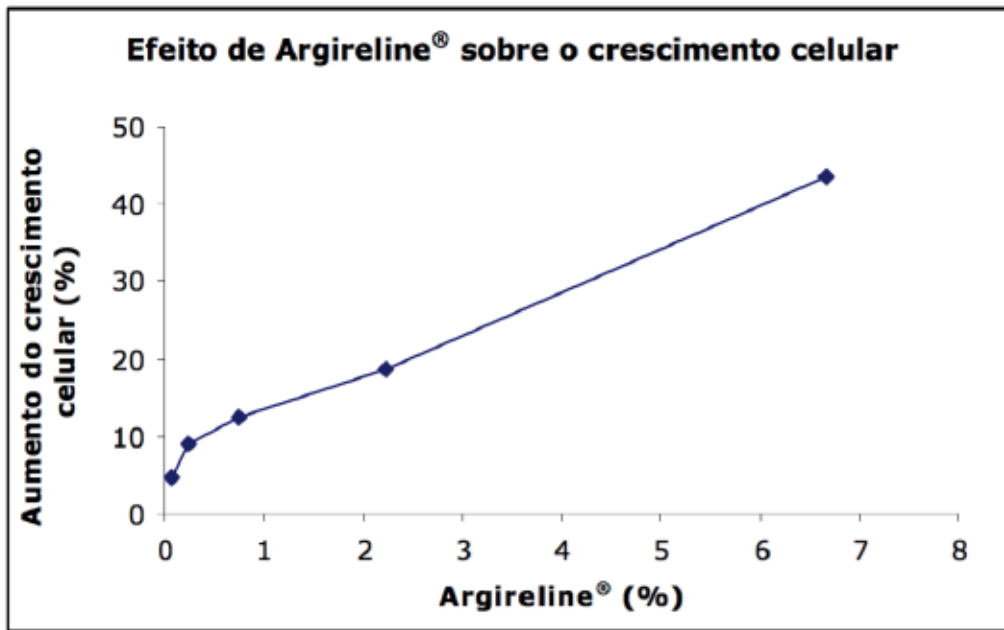
Figura 4. Modulação da da liberação de catecolaminas.

A significativa modulação de ambos os neurotransmissores em concentrações na ordem de nM de **Argireline®** é uma indicação clara da alta atividade anti-rugas deste hexapeptídeo.

3. Avaliação da vitalidade e morfologia de culturas de fibroblastos tratadas com **Argireline®**

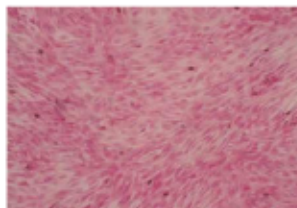
Foram realizadas culturas de células da pele humana juntamente com **Argireline®** e o resultado observado foi o aumento do número de fibroblastos da pele. A incubação das células se deu num período de 5 dias.

Argireline® foi adicionado em diferentes concentrações, e pode-se concluir que, quanto maior a concentração de **Argireline®**, maior é a estimulação do crescimento dos fibroblastos, conforme o gráfico que segue.



4. Avaliação da Morfologia Celular dos Fibroblastos

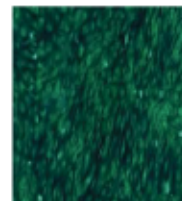
Após 5 dias de incubação com Argireline® (6,67%)



Menor resolução

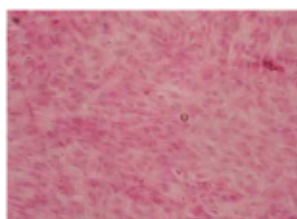


Maior resolução

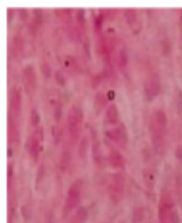


Coloração intensa

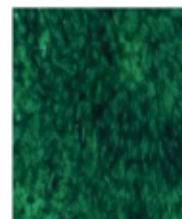
Fibroblastos não tratados (controle)



Menor resolução



Maior resolução



Coloração intensa

Após 5 dias de incubação, as células que foram tratadas com **Argireline®** apresentaram (a partir da observação em microscopia eletrônica) coloração mais intensa, se comparadas às células não-tratadas com **Argireline®**, o que indica proliferação do número de fibroblastos, e além disso, as células ficaram mais fusiformes, ou seja, foram melhor formadas.

Teste in vivo

5. Teste anti-rugas em voluntários saudáveis

Uma análise topográfica da pele, para mensurar a efetividade de uma emulsão O/A contendo 10% de **Argireline®**, foi realizada através da avaliação de silicon imprints (“carimbos de silicone, moldes de silicones”) da região ao redor dos olhos de 10 voluntárias saudáveis. Os silicones imprints foram obtidos em um pré-teste, antes do tratamento da pele com **Argireline®**, e após 15 e 30 dias de aplicação da formulação duas vezes ao dia.

O resultado observado foi uma diminuição significativa da profundidade das rugas após 30 dias. A seguir, são apresentados os resultados de duas das 10 voluntárias:

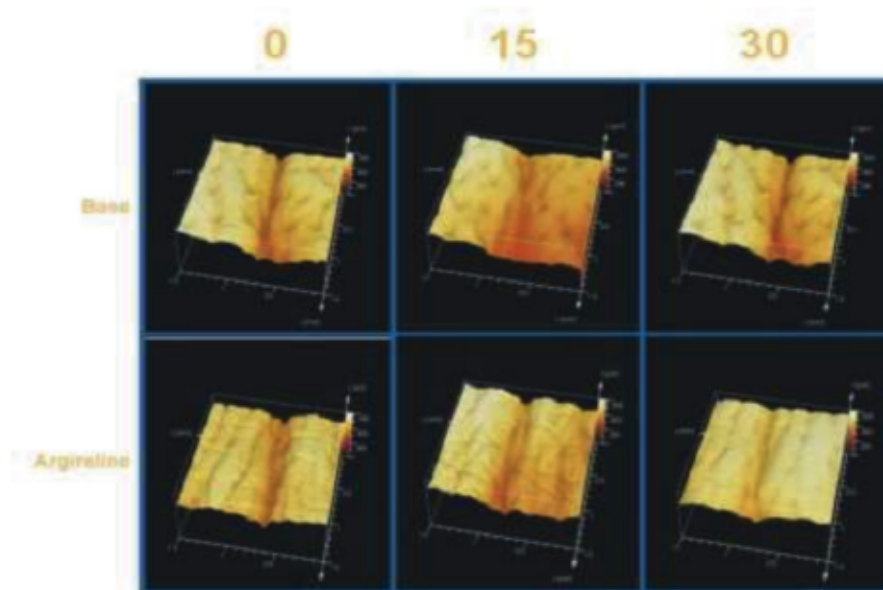


Figura 5. Imagens topográficas da superfície da pele antes e depois de 15 dias e antes e depois de 30 dias de um tratamento com creme a 10% de **Argireline®**. As imagens superiores mostram um creme placebo utilizado como controle negativo. Trata-se da voluntária no5, de 38 anos.

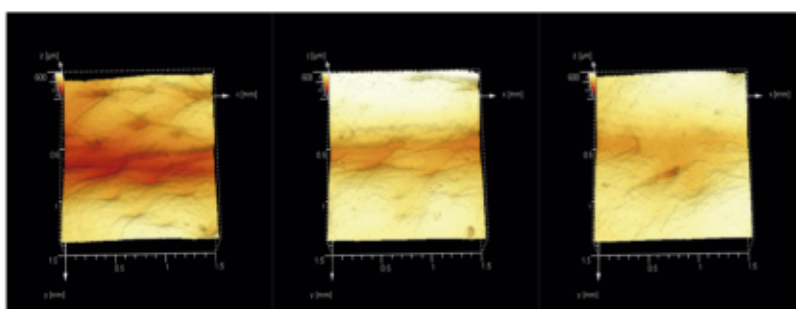


Figura 6. Imagens topográficas da superfície da pele depois de 15 dias e depois de 30 dias de um tratamento com creme a 10% de Argireline . Trata-se da voluntária no7 de 45 anos.

Resultado observado: **Argireline®** foi capaz de reduzir, na média, até 27% da profundidade da ruga de todas as 10 voluntárias, após 30 dias do teste.

Concentração de uso

A Lipotec recomenda uma faixa de concentração de de **Argireline®** entre 3 e 10%.

Recomendações farmacotécnicas

Argireline® pode ser incorporado em emulsões, géis, sérums e demais preparações onde a redução de linhas ou rugas de expressão do rosto for desejada.

Argireline® é hidrossolúvel e de fácil incorporação às bases prontas, em temperatura inferior a 40oC. Entre outras compatibilidades é compatível com bases

Referências bibliográficas

Literatura do fabricante – Lipotec (Espanha).

Blanes-Mira, C.; Clemente, L; Jodas, J.; Gil, A.; Fernández Ballester, G.; Pérez- Payá, E.; Ponsati, B.; Gutiérrez, L.; A synthetic hexapeptide (Argireline) with antiwrinkle activity. International Journal of Cosmetic Science; Vol.24, 2002, pag.303-310.

Clara Blanes-Mira, Jaime M. Merino, Elvira Valera, Gregorio Fernández-Ballester, Luis M. Gutiérrez, Salvador Viniegra, Enrique Pérez-Payá and Antonio Ferrer- Montiel; Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis. Journal of Neurochemistry, Vol.88, No. 1, 2004, pag.124-135.

Tens'Up®

Es un novedoso activo con marcado efecto lifting o tensor de acción inmediata y a medio plazo, tal como se demuestra en los estudios de eficacia in-vivo.

Tens'Up® combina la acción lifting con una actividad anti-edad, ya que incrementa la síntesis de colágeno, por lo que podemos hablar de una acción dual de mejora inmediata de la apariencia de la piel, y de tratamiento anti-envejecimiento a más largo plazo.

Efecto lifting

La acción lifting o tensora inmediata de la superficie cutánea es una propiedad cosmética que ejercen macromoléculas de diversos orígenes: animal (colágeno, quitosano, queratina, suero bovino, ácido hialurónico); vegetal que generalmente son biopolímeros (proteínas de trigo, arroz, soja, polisacáridos) y derivados de origen sintético.

El mecanismo de actuación de estas moléculas consiste en ejercer una tensión mecánica suficiente sobre la piel como para alisar la superficie cutánea y proporcionar un aspecto terso y resplandeciente de forma instantánea. Estas macromoléculas forman una película superficial que alisa la piel, borra las arrugas y líneas de expresión, y proporciona un aspecto más radiante y luminoso. La prolongación de este efecto tensor depende exclusivamente de la propia película que se forma.

Este innovador ingrediente cosmético de origen vegetal de acción dual, con efecto lifting además facilita la penetración de sus biomoléculas incrementando la síntesis de colágeno y prolongando el efecto tensor sobre la piel.

Tens'Up® es una novedosa matriz hidrocoloide tridimensional de galactomananos, que libera de manera secuencial, oligosacáridos obtenidos de la raíz de achicoria (*Cichorium intybus* L.). Esta red tridimensional se adsorbe sobre la superficie de la piel para formar una película continua que permite originar este efecto lifting inmediato y un efecto prolongado por la liberación y posterior absorción de los oligosacáridos.

BOTÁNICA Y QUÍMICA

ACHICORIA



Achicoria, Chicoria, Amargón y en algunos países Radicchio son los nombres comunes con los que se denomina a la especie "*Cichorium intybus* L.". Se trata de una planta bianual o perenne perteneciente a la familia Asteraceae que puede alcanzar el metro de altura. Las flores que aparecen en verano son de color celeste-violáceas y forman capítulos estrellados.

La achicoria es originaria de Europa y regiones templadas de Asia. Ha sido utilizada por los egipcios como planta medicinal. Dioscórides la mencionaba en su tratado de plantas medicinales, y Galeno se refería a ella específicamente para los trastornos hepáticos. Los griegos y los romanos la consumían en ensaladas junto con las flores de malva.

En la Edad Media se la consideraba planta mágica, capaz de dar invulnerabilidad a quien la consumiera. Las hojas de achicoria son un componente importante para las ensaladas en Europa, especialmente en Francia, Bélgica, Holanda y en los Estados Unidos. La raíz se molía y usaba como un sustituto del café.

En medicina tradicional se han utilizado las hojas, para el tratamiento de afecciones hepáticas, renales y urinarias. El jugo de las hojas también se ha aplicado tópicamente para tratar verrugas e irritaciones cutáneas. En tratamientos oculares, se han aplicado cocimientos de las flores. Los preparados a base de raíces se emplean en la pérdida de apetito, dispepsia y para eliminar cálculos renales.



La raíz de achicoria contiene abundante inulina (>40%), sacarosa (\approx 14%), celulosa (\approx 5%), proteínas (\approx 6%), ácidos clorogénico e isoclorogénico, lactonas sesquiterpénicas: lactucina y lactupicrina y elementos minerales (\approx 4%). Otros componentes minoritarios son flavonoides, taninos, cumarinas, gomas, pectinas, y componentes volátiles

Oligosacáridos de la achicoria

La achicoria es rica en fructanos como inulina (figura 1) e inulonosa, en fructooligosacáridos como 1-kestosa (Figura 2) y nistosa (figura 3) y en azúcares como fructosa, sacarosa, glucosa (van Den Ende et al., 1996).

La inulina está constituida por moléculas de fructosa unidas por enlaces B(2-1) fructosil-fructosa. Las cadenas de fructosa tienen la particularidad de terminar en una unidad de glucosa unida por un enlace - (1,2) (residuo -D-glucopiranosil), pero también el monómero terminal de la cadena puede corresponder a un residuo de -D-fructopiranosil. Estos hidratos de carbono presentan un estructura polimérica predominantemente lineal.

La obtención de los oligosacáridos de la achicoria (OAs) se realiza mediante una separación física de cromatografía en columna, donde previamente se ha realizado una extracción con agua caliente, filtración y depolimerización enzimática.

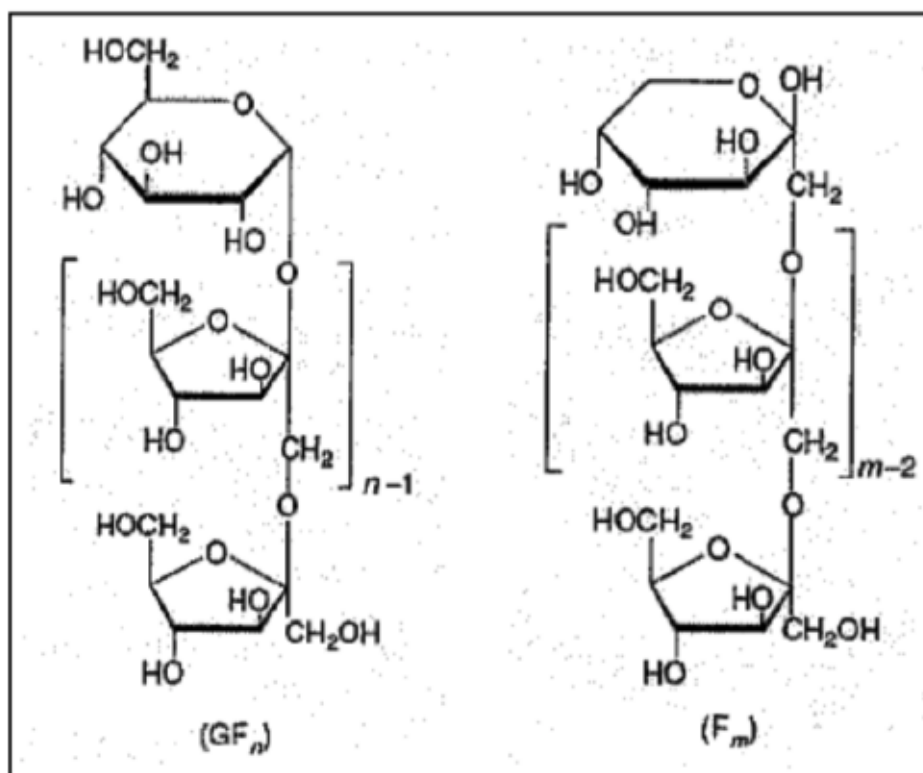


Figura 1. Estructura química de la inulina. GF_n con una molécula terminal de glucosa y F_n con una molécula terminal de fructosa (Madriga et al. 2007).

Los oligosacáridos del **Tens'Up®** presentan un grado de polimerización (GP) < 20 en más del 85%.

Figura 2. 1-Kestosa

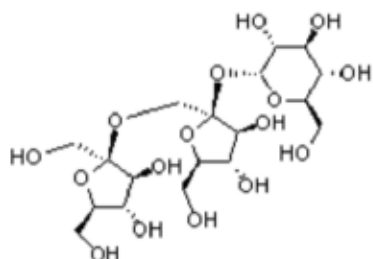
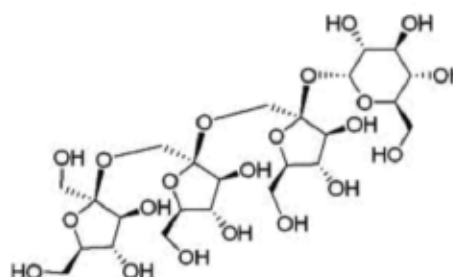


Figura 3. Nistosa



TARA



“*Caesalpinia spinosa* (Mol) O. Kuntze” se conoce vulgarmente como Tara. La especie es nativa del Perú, pero se encuentra ampliamente distribuida en América Latina. Crece de manera silvestre en los bosques y valles andinos, aproximadamente entre 1000 y 3100 metros. La Tara tiene un alto potencial para la reforestación, soporta bien los ambientes secos y se desarrolla en suelos que van desde arenosos hasta pedregosos.

Sus frutos son vainas aplanadas que contienen de 4 a 7 semillas. En el interior de la cáscara de las semillas podemos diferenciar dos partes: el germen (embrión) y el endospermo (albumen). Este endospermo está principalmente constituido por polisacáridos de manosa y galactosa denominados galactomananos.

Los galactomananos son polisacáridos de alto peso molecular que poseen una función hidratante natural en la semilla, y que evitan la desecación del embrión durante su desarrollo gracias a su elevada capacidad de captar y retener agua. Estructuralmente son cadenas lineales de manosa unidas entre sí por enlaces glicosídicos con ramificaciones laterales de un residuo de galactosa, con un ratio Manosa:Galactosa (Man:Gal) 3:1, con una distribución de galactosa bastante regular a lo largo de la cadena lo que le proporciona una buena solubilidad en agua.

Estos galactomananos son los que configuran la Matrix que contendrá el activo. Esta Matrix se obtiene mediante una tecnología innovadora, por inyección multicapilar.

La matriz tridimensional de galactomananos contiene un mínimo de 35% de fructooligosacáridos de la raíz de *Cichorium intybus* L.”.

TECNOLOGÍA Y ESTRUCTURA DEL Tens'Up®

En la etapa de preparación, la fracción de polisacáridos o galactomananos que formará la Matrix se somete a una fase de humectación con aumento de temperatura controlado hasta conseguir la completa solubilidad.

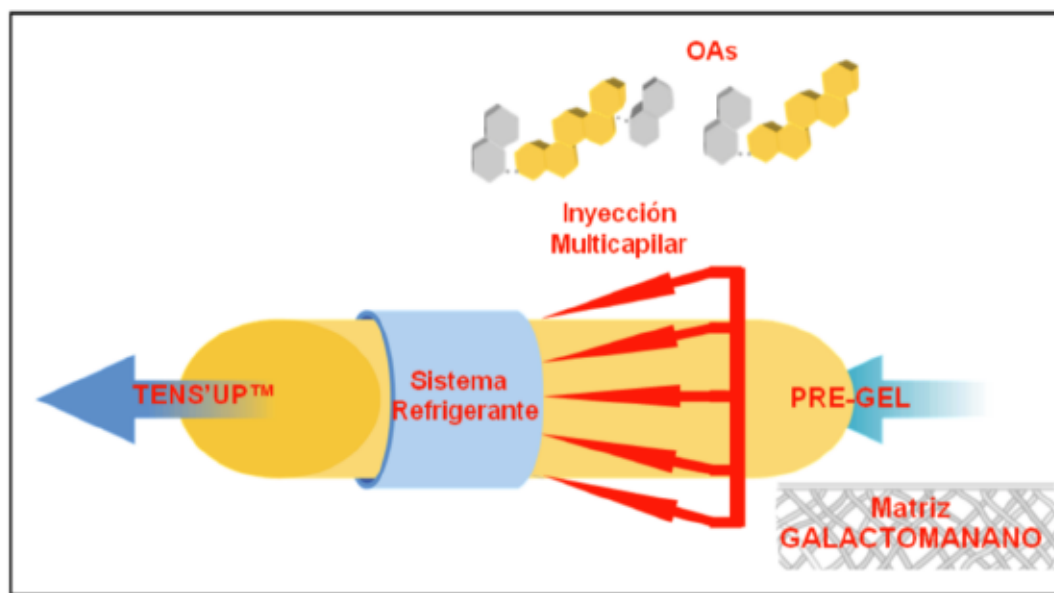


Figura 4. Inyección multicapilar.

Se forma un pre-gel hidrocoloidal necesario para poder incorporar con precisión los oligosacáridos de achicoria. Se hace circular el pre-gel de galactomanano por un tubo a temperatura constante y en un punto determinado se aplica una inyección multicapilar del concentrado de oligosacáridos (COS), seguida de un enfriamiento inmediato del sistema. La inyección permite llegar a una concentración crítica de solutos, que combinada con el drástico descenso de temperatura provoca la reacción del galactomanano formando una matriz tridimensional que atrapa los activos. La inyección de los COS se realiza en continuo y a alta presión, asegurando una incorporación homogénea de las moléculas pequeñas a la matriz de galactomanano.

Con esta tecnología innovadora, se obtiene la estructura única en **Tens'Up®** que determina su mecanismo de acción y la liberación prolongada de los oligosacáridos de Cichorium intybus.

PROPIEDADES DEL Tens'Up®

La gran mayoría de estos activos de efecto "flash" de origen vegetal son proteínas o derivados semisintéticos de las mismas o combinaciones con polímeros químicos. Este grupo se caracteriza por un marcado efecto tensor pero presenta los inconvenientes asociados a la utilización de proteínas (color, olor característico).

Otro grupo está constituido por combinaciones de hidrolizados proteicos con gomas naturales (acacia, xantana, algarrobo). La finalidad de estos activos es siempre la misma, obtener un potente efecto tensor inmediato y mejorar las características sensoriales sobre la piel.

Actualmente los polisacáridos y los oligosacáridos están sustituyendo a las proteínas en las formulaciones tipo flash. El objetivo sigue siendo mejorar las propiedades sensoriales tras la aplicación del producto, manteniendo un óptimo efecto tensor.

Tens'Up® supone un avance en este tipo de activos por su efecto dual, combina la acción tensora superficial y el tratamiento anti-edad, con unas agradables propiedades sensoriales.

Para evaluar el efecto lifting de **Tens'Up®** se han realizado dos estudios,

- un estudio in vivo con el objetivo de observar los cambios sobre la piel y conocer los resultados de un panel sensorial
- un estudio ex vivo para demostrar el beneficio anti-edad, mediante el incremento de la síntesis de colágeno.

EFICACIA IN VIVO

El objetivo del ensayo ha sido evaluar la eficacia in vivo de **Tens'Up®** como activo cosmético con efecto lifting. Para su evaluación se han tomado imágenes (Fotofinder Dermoscope ver. 2.0) para visualizar los cambios en la piel y además se ha realizado una evaluación subjetiva.

Metodología

Un panel de 15 voluntarios (40 - 65 años) ha realizado una única aplicación de una solución acuosa al 10% **Tens'Up®** y ha valorado su efecto a los 5 minutos y las 2 horas tras su aplicación.

Se toma una imagen de la zona periorcular antes de la aplicación de producto y 5 minutos y 2 horas después de su aplicación.

Resultados

La aplicación de **Tens'Up®** mejora visualmente la apariencia de la piel y se produce una atenuación visible de las arrugas del contorno ocular.

Tens'Up® ejerce un marcado efecto lifting sobre la piel.

Evaluación subjetiva

Para llevar a cabo la evaluación subjetiva, los voluntarios cumplimentaron un cuestionario, tanto a los cinco minutos (T5') como a las dos horas (T2h) de la aplicación del **Tens'Up®**.

Los resultados obtenidos con la utilización de **Tens'Up®**, a los 5 minutos (T5') y después de dos horas de su aplicación (T2h) se muestran en las figuras 8 y 9.

La evaluación subjetiva de **Tens'Up®** obtiene una excelente valoración en cuanto a su efecto lifting. Más del 90% de los voluntarios, corroboran este efecto tensor inmediato, tanto a los 5 minutos como a las 2 horas de su aplicación. Conjuntamente la acción antiarrugas también es valorada muy positivamente por los voluntarios.

La suavidad y el confort que aporta el activo también obtienen resultados muy satisfactorios, así como el efecto global en la piel.

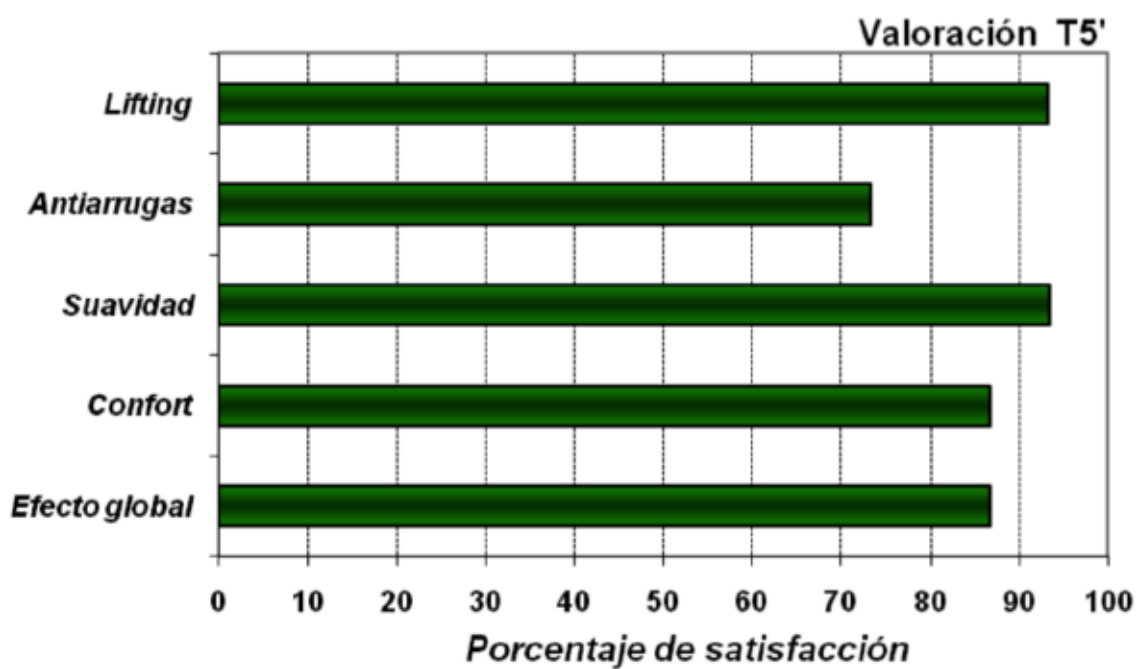


Figura 8. Resultados del cuestionario obtenidos a T5' después del tratamiento con Tens'Up®.

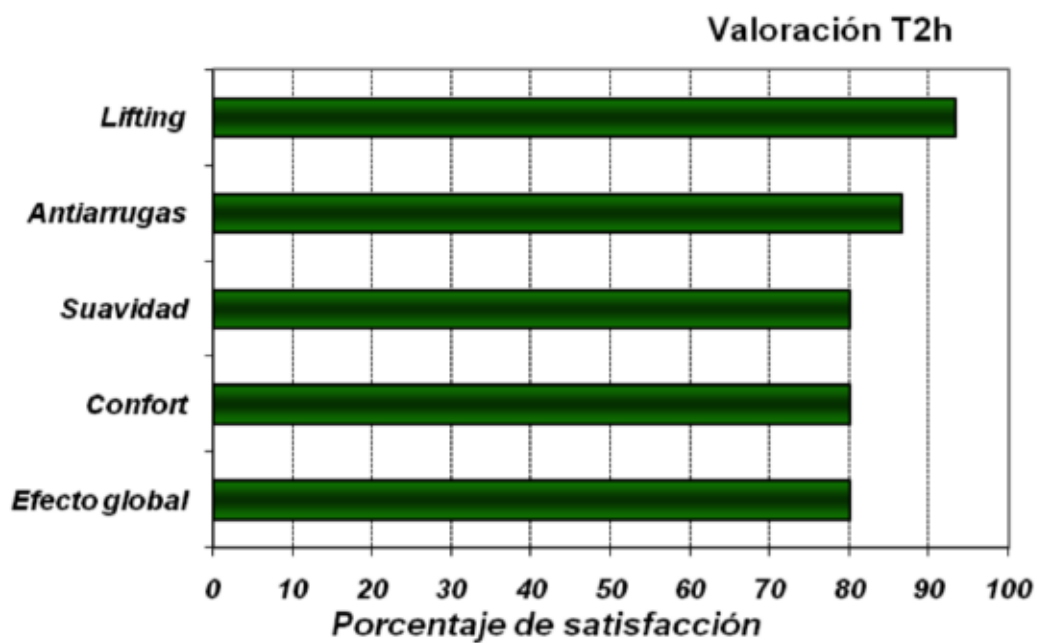


Figura 9. Resultados del cuestionario obtenidos a T2h después del tratamiento con Tens'Up®.

EFICACIA EX VIVO

Se evalúa la capacidad de **Tens'Up®** para incrementar los niveles de colágeno en la dermis y actuar como un tratamiento anti-edad además del efecto tensor.

La cuantificación del contenido de colágeno se ha realizado utilizando la tinción de Miller modificada sobre biopsias de piel.

Materiales y métodos

Los productos a ensayar han sido dos formulaciones cosméticas que contienen 5 y 10% de **Tens'Up®** respectivamente, Placebo, Control y Control positivo (Retinol 0,01%) y han sido aplicados tópicamente sobre las muestras de piel, diariamente durante 6 días.

La tabla 1 detalla los componentes de las formulaciones cosméticas y placebo utilizados en este estudio. El control positivo es Retinol al 0,01% disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO).

INGREDIENTE	Tens'Up 5%	Tens'Up 10%	Placebo
Ethylhexyl Stearate, Phenoxyethanol, Sorbitan Laurate, Polyglyceryl-4 Laurate, Dilauryl Citrate	4,2	4,2	4,2
Cetyl Ricinoleate	0,80	0,80	0,80
Xanthan Gum	0,72	0,72	0,72
Water (Aqua)	c.s.p. 100	c.s.p. 100	c.s.p. 100
Tens'Up™	5,0	10,0	–
Aqua (Water), Citric Acid	0,05	0,05	0,05

Tabla 1. Formulaciones cosméticas ensayadas en el estudio in-vivo.

Tras seis días de tratamiento, las muestras de piel se tiñen con la tinción de Miller modificada (Miller's elastina stain kit, Clin-Tech Ltd), que presenta de color rojo las fibras de colágeno. La cuantificación se realiza mediante el estudio de la intensidad y distribución de la tinción, mediante un software de análisis de imagen apropiado.

Resultados

La figura 10 muestra los resultados de la evaluación de colágeno comparativos de los diferentes tratamientos, al cabo de seis días en cultivo.

La aplicación del **Tens'Up®** produce un incremento en los niveles de colágeno.

Si se comparan los resultados con el Control, el incremento es del 15% y 25% para **Tens'Up®** al 5% y 10%, respectivamente.

Si se comparan con el Placebo, el incremento es del 8% y del 17% para **Tens'Up®** al 5% y 10%, respectivamente.

Cuantificación Colágeno

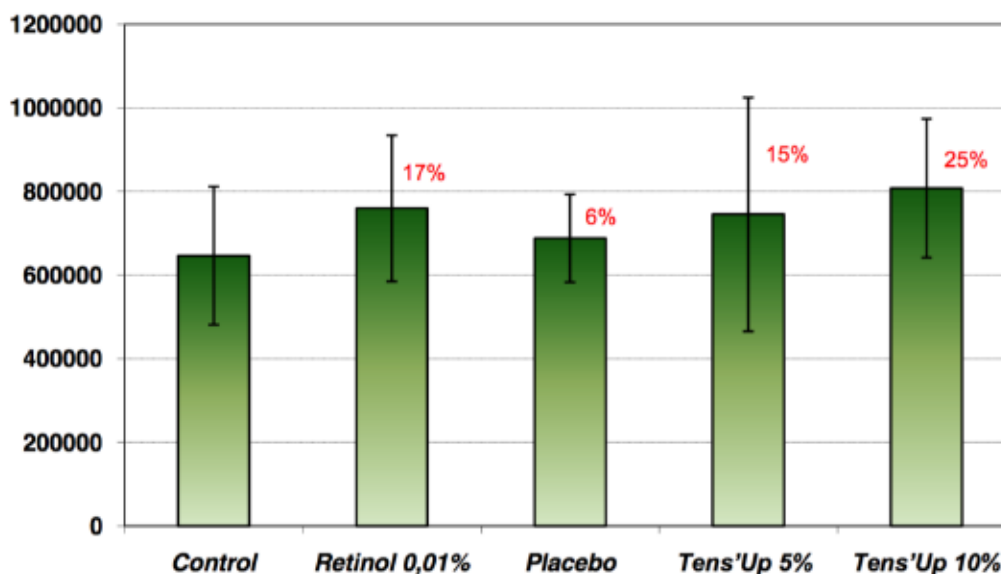


Figura 10. Evaluación del contenido en colágeno tras 6 días de tratamiento. Los valores en rojo muestran el porcentaje en comparación con el Control.

Cabe destacar los buenos resultados obtenidos y más si tenemos en cuenta que se comparan con Retinol, anti-arrugas bien conocido; el incremento en la síntesis de colágeno es superior en el caso del **Tens'Up®** al 10%.

Se observa que el incremento de los niveles de colágeno es dosis-dependiente.

En la figura 11 se muestran algunas de las imágenes obtenidas para realizar la cuantificación del colágeno en función de los diferentes tratamientos. A mayor densidad de coloración mayor es la cantidad de colágeno. Se observa claramente una mejora en la síntesis de esta proteína después de la aplicación de **Tens'Up®**

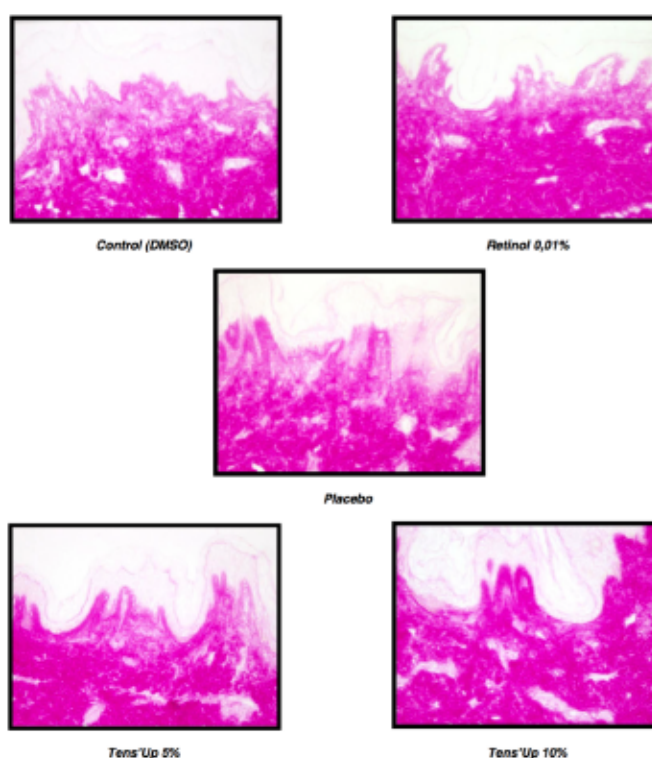


Figura 11. Imágenes ilustrativas de los diferentes tratamientos con la tinción de Miller modificada.

CONCLUSIÓN

Tens'Up® es un nuevo enfoque en cuanto a activos de efecto lifting inmediato, ya que a su acción de tensión superficial se suma la actividad antienvjecimiento mediante el incremento demostrado de la síntesis de colágeno que rellena las arrugas, comparable a la del retinol.

Su acción dual permite formular productos "flash" con el valor añadido anti-edad.

Además, el mecanismo de liberación sostenida prolonga el efecto lifting, por lo que podemos hablar de una acción inmediata y de larga duración.

BIBLIOGRAFÍA

Alonso J. Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos. Rosario: Corpus. 2004.

Benaiges A., Guillén P. Botanical extracts. In: Analysis of cosmetic products. Salvador A and Chisvert A (eds.) Elsevier, Amsterdam (2007) p. 345-363.

Bland E.J., Keshavarz T, Bucke C. The influence of small oligosaccharides on the immune system. Carbohydrate Research. 2004, 339:1673-1678.

Epstein E.H., Munderloh N.H. Human skin collagen. The Journal of Biology Chemistry. 1978, 253(5): 1336-1337.

Jouandeaud M., Bordes S., Soulie C., Closs B. The influence of oligosaccharides on skin aging: an alternative to retinoids. Cosmetics & Toiletries. 2004, 119(6):67-75.

Madrigal L., Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 2007, 57(4):387-396.

Mansell P.W.A. Polysaccharides in skin care. Cosmetics & Toiletries. 1994, 109(9):67-72.

Matsui M.S., Muizzuddin N., Arad S., Marenu K. Sulfated polysaccharides from red microalgae have anti-inflammatory properties in vitro and in vivo. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2003, 104(1):13-22. Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/63rx4482p4p5583u/>

Péterszegi G., Isnard N., Robert A.M., Robert L. Studies on skin aging: Preparation and properties of fucose- rich oligo-and polysaccharides. Effect on fibroblast proliferation and survival. Biomed Pharmacother. 2003, 57(5-6):187-194. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12888253>

Petrovic J., Stanojkovic A., Comic L.J., Curcic S. Antibacterial activity of Cichorium intybus. Fitoterapia. 2004, 75(7-8):737-739.

Van Beek T.A., Maas P., King B.M., Leclercq E., Vora A.G.J., de Groot A. Bitter sesquiterpene lactones from chicory roots. J Agric Food Chem. 1990, 38:1035-1038. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00094a026>.

Van Den Ende W., Mintiens A., Speleers H., Onuoha A.A., van Laere A. The metabolism of fructans in roots of Cichorium intybus during growth, storage and forcing. New Phytol. 1996, 132:555-563.