

پروژلین



ACTIVE
INGREDIENTS

PROGELINE™

MODULATES PROGERIN,
A MARKER OF SENESENCE

پروژلین، پروژرین (شاخص پیری بیولوژیکی پوست)
را مهار می کند.



محصولی از:

LUCASMEYER
COSMETICS

فهرست

چکیده

پروژلین در یک نگاه

۱- مقدمه

مفهوم پروژلین

پروژلین: بازاندیشی پیری پوست توسط تنظیم با پروژلین، مارکر پیری پوست

۲- مطالعات اثربخشی

مهار سنتز پروژلین

مهار الاستاز توسط پروژلین در اکسپلانتهای سلولهای پوستی انسان

تحریک تولید سیندکان در کراتینوسیت‌های انسان

مهار فعالیت آنزیمهای MMP 1, MMP 3, MMP 9

افزایش کشش شبکه سه بعدی کلاژن توسط فیبروبلاست‌های انسان

۳- مطالعات بالینی

ارزیابی اثر ضدافتادگی

ارزیابی استحکام و کشسانی پوست

ارزیابی توسط مصرف کننده

۴- اطلاعات فنی

کاربردهای آرایشی

راهنمای استفاده

۵- نتیجه گیری نهایی

چکیده

بنجامین باتن^۱ را در فیلم دیوید فینچر^۲ با بازیگری برد پیت^۳ به خاطر دارید؟ اگر چه آن کاراکتر یک شخصیت خیالی بود، اما نمونه مشهوری از بیماران مبتلا به پروژریا^۴ یا پیریچگی^۵ به شمار می آید.

در بیماران مبتلا به پروژریا، یک جهش ژنتیکی^۶ باعث تولید بیش از حد پروژرین^۷ در پوست شده است. در گذشته تصور می شد که پروژرین فقط در پوست بیماران مبتلا به پروژریا وجود دارد. اما، تحقیقات اخیر نشان داده اند که علاوه بر بیماران مبتلا به پروژریا، در سلولهای پوست افراد سالخورده سالم هم این پروتئین تولید می شود بطوریکه امروزه پروژرین را به عنوان شاخص پیری بیولوژیکی^۸ سلولهای پوست اندازه گیری می کنند. از آنجا که خود پروژرین نیز بی اثر نبوده و در افزایش پیری بیولوژیکی پوست نقش آفرینی می کند، در سنین بالاتر و در افراد سالخورده تر مقدار پروژرین پوست به شکل تصاعدی زیاد می شود. بنابراین اگر ماده ای پیدا شود که بتواند تولید پروژرین را سالخوردگی را مهار کند، کمک بسیار بزرگی به محافظت از پوست در برابر پیدایش علائمی همچون افتادگی پوست و ایجاد چروکهای عمیق می کند.

خبر خوب این است که این ماده اخیراً اختراع شده و پروژلین نام گرفته است. پروژلین یک پپتید سه اسید آمینه ای است که از نظر ساختاری از مهارکننده طبیعی الاستاز در پوست (الافین^۹) الهام گرفته شده است. پروژلین نتیجه آخرین تحقیقات دانشمندان شرکت لوکاسمایر یونیپکس است که به خاطر آن مفتخر به دریافت جایزه بهترین ماده اولیه آرایشی بهداشتی سال در همایش 2012 In Cosmetics گردید.

پروژلین نه فقط در مهار پروژرین، بلکه در مهار آنزیم های الاستاز و متالوپروتئیناز نیز موثر است. پروژلین همچنین فیبروبلاست ها را در اعمال نیروهای کششی به ماتریس سه بعدی کلاژن یاری می کند و موجب افزایش تولید سیندکانها (عامل چسبندگی اپیدرم) در سلولهای پوست نیز می شود.

بنابراین، مبارزه پروژلین با پیری پوست فقط محدود به کاهش علائم پیری نیست. بلکه پروژلین مشکل پیری پوست را به صورت ریشه ای و در سطح سلولی برطرف می کند.

¹ Benjamin Button

² David Fincher

³ Brad Pitt

⁴ Progeria

⁵ Immature aging

⁶ Genetic mutation

⁷ Progerin

⁸ Marker of senescence

⁹ Elafin



کمپانی لوکاسمایر یونیپکس به خاطر اختراع آدیپوفیل و پروژلین، در سال ۲۰۱۲ مفتخر به دریافت جایزه بهترین ماده اولیه آرایشی بهداشتی سال در همایش In Cosmetics 2012 گردید.



پروژلین در یک نگاه

نام تجاری	PROGELINE®
INCI نام	Glycerin (and) Water (and) Dextran (and) trifluoroacetyl Tripeptide-2
منشأ Origin	3 amino acids peptide biomimetic of elafin, an enzyme inhibitor involved in extracellular matrix integrity پپتید ۳ اسید آمینه ای که ساختارش الهام گرفته از الافین (مهارکننده آنزیمی درگیر در حفظ سلامت ماتریس برون سلولی) است.
ویژگی های آرایشی Cosmetic properties	کاهش سنتز پروژرین Reduction of progerin synthesis مهار فعالیت الاستاز درم Inhibition of dermis elastase activity مهار آنزیمهای ماتریس متالوپروتئیناز Inhibition of MMP-1, MMP-3, MMP-9 activity انقباض ماتریس های کلاژن Contraction of collagen matrices افزایش سنتز سیندکان Increase of syndecan synthesis
کاربردها Applications	- محصولات ضد پیری Anti-aging - محصولات افزایش دهنده استحکام پوست Firming care - محصولات شکل دهنده پوست Remodelling skin care - جایگزین جراحی Alternative to surgery - مراقبت از پوست سالخورده Skin care for mature skin - محصولات بهداشت شخصی آقایان Men's care - محصولات پس از زایمان Body care - محصولات پس از زایمان Post-pregnancy care
مزایای پوستی	Reduces the signs of aging: sagging skin and wrinkles کاهش علائم پیری: افتادگی پوست و چروک ها Has a remodelling effect, improves the jawline دارای اثر شکل دهی مجدد: اصلاح شکل صورت در ناحیه فک The skin is firmer and appears lifted and denser پوست محکمتر، کشیده تر و با قوامتر به نظر می رسد.
دوز پیشنهادی	- درمان سریع 2% Intensive treatment: 2% - محصولات بدن 1% Body care: 1% - درمان پیشگیرانه 0.5-2% Preventive care: 0.5-2%
دامنه pH	4-6
نحوه استفاده	در انتهای پروسه ساخت در دمای زیر ۴۰ درجه سانتی گراد
موارد عدم سازگاری	نا مشخص

۱- مقدمه

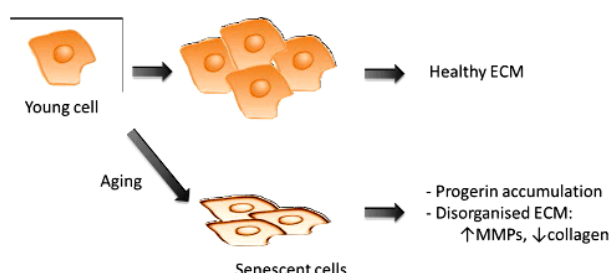
افزایش سن، اثر خود را روی پوست چهره به شکل های ناخوشایندی نشان می دهد: افتادگی پوست^{۱۰} و چروک ها^{۱۱} نگرانی های اصلی هستند. اگر در گذشته، فقط خانمهای بالای ۴۰ سال به فکر راهی برای بازگشت زمان بودند، در حال حاضر خانمهای ۲۰ ساله و حتی آقایان هم نگران پیری پوست چهره خود هستند.

امروزه علاوه بر اینکه جمعیت افزایش پیدا کرده، آگاهی مردم در مورد اثرات زندگی ناسالم^{۱۲} بر پیری پوست نیز بیشتر شده است. این عوامل، محصولات ضدپیری را بسیار پرتعدادار نموده اند. پیش بینی می شود رقم فروش محصولات بهبود دهنده ظاهر پوست^{۱۳} در سال ۲۰۱۳ با یک رشد ۱۰,۴ درصدی نسبت به چند سال گذشته به ۱۰۳ میلیارد دلار برسد.

در سال ۲۰۱۲، با افزایش چشمگیر دانش علمی در زمینه سلامت و زیبایی پوست، مبارزه با پیری پوست نه فقط محدود به رفع علائم، بلکه به تاخیر انداختن پیری بیولوژیکی^{۱۴} پوست نیز معطوف گردید.

منظور از پیری بیولوژیکی (سینسنس)^{۱۵}، تغییراتی است که با گذشت زمان و در اثر افزایش سن در یک ارگانیسم رخ می دهد. این تغییرات می تواند مربوط به سلولها و عملکرد آنها باشد یا تغییراتی باشد که در کل ارگانیسم^{۱۶} اتفاق می افتد.

لغت Senescence از ریشه لاتین آن Senex به معنای پیرمرد، کهنسال یا مسن مشتق شده است.



سلول پیر^{۱۷} سلولی است که قابلیت تقسیم شدن^{۱۸} را از دست داده اما همچنان فعال است. سلولهای پیر نسبت به سلولهای جوان، پهن تر هستند، تماس کمتری با سلولهای مجاور دارند و به ماتریس برون سلولی بیشتر می چسبند. در سلولهای پیر، آنزیمهای متالوپروتئیناز^{۱۹} فعال تر هستند.

نیاز مداوم به مواد اولیه ابتکاری برای به کارگیری در محصولات آرایشی ضدپیری و همچنین پیشرفت های علمی در زمینه بیوشیمی پوست، ما را بر آن داشت تا پتید جدید و پیشرفته ای که با تاثیر بر پروژیرین^{۲۰} با پیری پوست مبارزه می کند ابداع کنیم.

¹⁰ Skin Sags
¹¹ Wrinkles
¹² Unhealthy lifestyle
¹³ Appearance segment
¹⁴ delaying senescence
¹⁵ Biological aging (senescence)
¹⁶ Whole organism
¹⁷ senescent cell
¹⁸ ability to divide
¹⁹ metalloproteinase
²⁰ Progerin

۱-۱ مفهوم پروژرین

عوامل مختلفی در پیری پوست دخیل هستند. از عوامل طبیعی گرفته تا عوامل محیطی مثل پرتوهای فرابنفش، استرس، خستگی و آلودگیهای محیط و همچنین برخی بیماری ها مثل پروژریا^{۲۱}. سوالی که پیش می آید این است که آیا فاکتورهای مربوط به بیماری می توانند بخشی از فرایند طبیعی پیری پوست را توجیح کنند؟



پروژریا یک بیماری مشهور، اما بسیار نادر است که به پیری شتاب یافته^{۲۲} مربوط است. لغت پروژریا از ریشه لاتین آن به معنای «پیر نابالغ^{۲۳}» گرفته شده است. این بیماری سوژه بسیاری از فیلم ها نیز بوده و شخصیت داستانی بنجامین باتن^{۲۴} یک نمونه مشهور است.



از نشانه های بیماری پروژریا تجمع پروتئینی به نام پروژرین در پوست است که فرم جهش یافته پروتئین Lamin-A می باشد. وجود این پروتئین با تغییراتی در پوست مثل بی نظمی بافت همبند^{۲۵} همراه است.

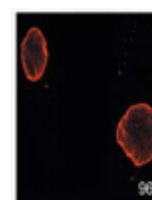
آیا پروژرین اطلاعاتی در مورد پیری معمولی^{۲۶} یا فرایند پیری بیولوژیکی^{۲۷} به ما می دهد؟

تحقیقات منتشر شده در چند سال اخیر اثبات می کند که پروژرین حتی در پوست افرادی که به بیماری پروژریا مبتلا نیستند هم وجود دارد. در افراد معمولی انباشت^{۲۸} این ماده در پوست نرخ تقریباً معادل ۳ درصد در سال دارد که در سنین بالاتر این عدد افزایش می یابد.

در هسته سلول پوست افراد سالخورده، همانند هسته سلول پوست بیماران مبتلا به پروژریا آسیب هایی مثل تغییر شکل پوشش هسته^{۲۹} و افزایش آسیب DNA مشاهده می شود. امروزه، بیان ژن تولید کننده پروژرین^{۳۰} به عنوان شاخص بیولوژیکی^{۳۱} پیری طبیعی سلول^{۳۲} شناخته شده و با پیری بیولوژیکی^{۳۳} پوست مرتبط دانسته می شود.



Cell nucleus of a 9 year old



Cell nucleus of a 96 year old

²¹ Progeria

²² Accelerated aging

²³ Prematurely old

²⁴ Benjamin Button

²⁵ disorganized connective tissue

²⁶ Normal aging

²⁷ Senescence process

²⁸ Accumulation

²⁹ changes in the nuclear envelope

³⁰ Progerin expression

³¹ Biomarker

³² normal cellular aging

³³ senescence

۲-۱ پروژلین: مبارزه با پیری پوست با مهار پروژلین

ورود پپتیدهای سنتزی بایومیمتیک^{۳۴} به فرمولاسیون محصولات آرایشی بهداشتی، نتیجه پیشرفتهای علمی اخیر است. عملکرد این ملکولهای جدید با عملکرد ملکولهای طبیعی تشابه دارد با این مزیت که ویژه گری^{۳۵} و کارایی^{۳۶} افزوده ای دارند. پپتیدهای بایومیمتیک^{۳۷} با الهام از پپتیدهای طبیعی پوست ساخته شده اند و روی فرایندهای فیزیولوژیکی پوست با ویژه گری^{۳۸} بالایی اثر می کنند.

پروژلین یک پپتید سه اسیدآمینو ای است که به تقلید از **الافین**^{۳۹} ساخته شده است. **الافین** مهارکننده طبیعی الاستاز پوست است که توسط کراتینوسیتها ساخته می شود.

پروژلین سنتز پروژلین (شاخص پیری بیولوژیکی پوست) را تنظیم می کند. پروژلین علائم مرتبط با پیری پوست مثل چروکها، افتادگی و شل شدگی پوست را کاهش داده و در شکل دهی مجدد پوست^{۴۰} کاملاً موثر است. پروژلین یک محصول پیشرفته برای مبارزه با پیری پوست بوده و سلامت و زیبایی را به پوست را هدیه می کند.



پروژلین روی **سیندکان-۱** (فراوان ترین سیندکان^{۴۱} در کراتینوسیتهای مخاطی^{۴۲}) نیز موثر است. ریشه لغت سیندکان کلمه syndein به معنای «اتصال به یکدیگر»^{۴۳} است. سیندکان در اپیدرم قرار گرفته و فرایندهایی مثل تکثیر^{۴۴}، مهاجرت^{۴۵} و چسندگی^{۴۶} سلولی را تنظیم می کند و در پیوستگی اپیدرمی^{۴۷} دخیل است. بیان ژن تولیدکننده سیندکان^{۴۸} در فرایند پیری ممکن است تغییر کند و به کاهش پیوستگی اپیدرمی و نتیجتاً به کاهش مقاومت پوست و شل شدگی آن بیانجامد.

³⁴ biomimetic synthetic molecules

³⁵ specificity

³⁶ efficacy

³⁷ Biomimetic peptides

³⁸ Specificity

³⁹ elafin

⁴⁰ remodeling

⁴¹ syndecan

⁴² Epithelial keratinocytes

⁴³ To bind together

⁴⁴ proliferation

⁴⁵ Migration

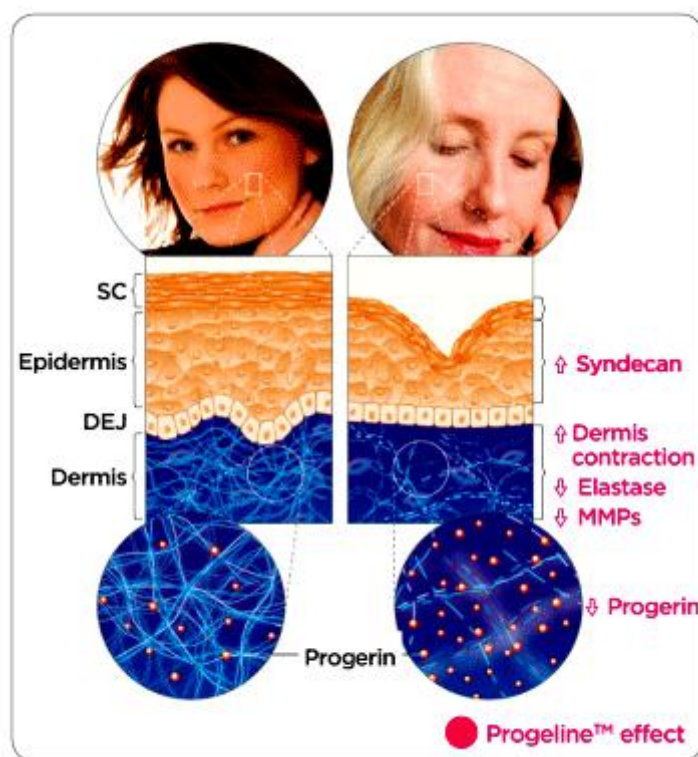
⁴⁶ Adhesion

⁴⁷ Epidermal cohesion

⁴⁸ Syndecan expression

آزمایشات و اندازه گیری های انجام شده همچنین نشان دادند که پروژلین به شکلی وابسته به دوز^{۴۹} فعالیت آنزیمی متالوپروتئینازها را کاهش می دهد که این موضوع نشان دهنده کارایی پروژلین در سالم نگهداری ماتریس برون سلولی است.

فیبروبلاستهای پوست پیر شده^{۵۰} توانایی کمتری برای تولید کلاژن دارند و نیروهای کششی^{۵۱} کمتری تولید می کنند. به همین دلیل در هنگام پیری، ساختار بخش میانی پوست^{۵۲} تغییر کرده، چروکها و افتادگی پوست ایجاد می شوند. پروژلین به فیبروبلاست در کشیدن ماتریس سه بعدی کلاژن^{۵۳} کمک کرده، موجب تقویت ماتریس میان پوست و نتیجتاً تقویت چارچوب ساختاری^{۵۴} پوست می شود.



پروژلین از شبکه کلاژن و الاستین پوست در برابر آثار مخرب پیری پوست محافظت می کند.

پروژلین با علائم پیری پوست مبارزه نموده و استحکام و کشسانی پوست را بازیابی می کند.

پروژلین برای شادابی پوست های خسته و بی حالت طراحی شده است.

⁴⁹ Dose dependent

⁵⁰ Aged fibroblasts

⁵¹ Contractile forces

⁵² Dermal architecture of the skin

⁵³ contraction of 3D collagen matrices

⁵⁴ architectural framework

۲- مطالعات اثربخشی

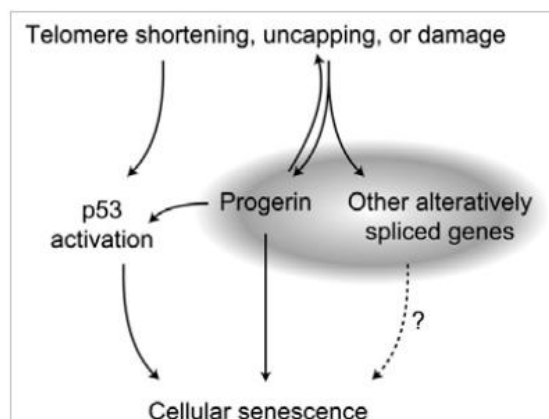
EFFICACY STUDIES



۱-۲ مہار سنتز پروژرین^{۵۵}

مقدمه:

در سال ۲۰۰۶ میستلی و همکاران^{۵۶} نشان دادند که پروژرین (فرم بریده شده^{۵۷} [و ناقص] لامین-A) در پوست افراد سالخورده فراوان تر است. در سال ۲۰۱۱ وردی و همکاران^{۵۸} با اندازه گیری کمی پروژرین در کشتهای فیبروبلاست^{۵۹}، نظریه تولید بیشتر پروژرین در پوست های سالخورده را تأیید نمودند. یافته های جدیدتر نشان دادند که پروژرین و بدکاری تلومر^{۶۰} هر دو، با همکاری یکدیگر، در پیری بیولوژیکی سلولی^{۶۱} پوست نقش دارند.



پروتکل

با استفاده از آزمون الیزا^{۶۲}، پروژرین در کشت های فیبروبلاست^{۶۳} گرمخانه گذاری^{۶۴} شده، در غیاب یا حضور پروژلین به صورت کمی اندازه گیری شد. در این آزمایش از فیبروبلاست معمولی جدا شده از یک داوطلب سفیدپوست ۴۴ ساله در محیط کشت FCS استفاده شد. پروژلین در غلظتهای مختلف ۰.۰۰۲۵٪ و ۰.۰۲۵٪ مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی سنتز پروژلین با استفاده از الیزای ویژه^{۶۵} انجام شد. برای مطالعه بیان ژن تولیدکننده پروژرین^{۶۶}، محتوی کل پروتئینهای^{۶۷} سلول در لایزات^{۶۸} (به دست آمده از سونیکاسیون^{۶۹}) با استفاده از روش بردفورد^{۷۰} اندازه گیری شد.

⁵⁵ INHIBITION OF PROGERINE SYNTHESIS

⁵⁶ Mistelli et al.

⁵⁷ truncated form

⁵⁸ Verdy et al.

⁵⁹ cultures of fibroblasts

⁶⁰ telomere dysfunction

⁶¹ cellular senescence

⁶² ELISA assay

⁶³ fibroblast cultures

⁶⁴ incubated

⁶⁵ specific ELISA

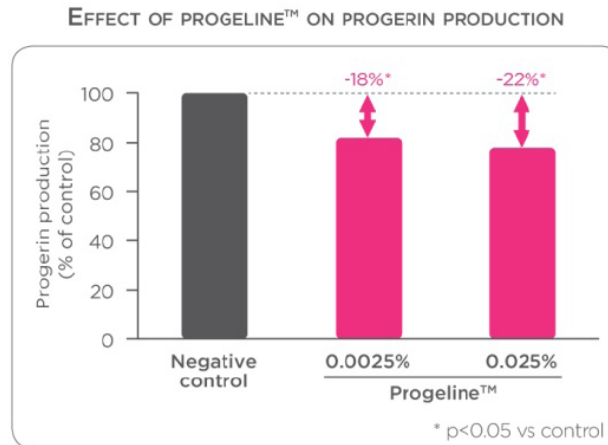
⁶⁶ progerin expression studies

⁶⁷ total protein content

⁶⁸ cell lysates

⁶⁹ sonication

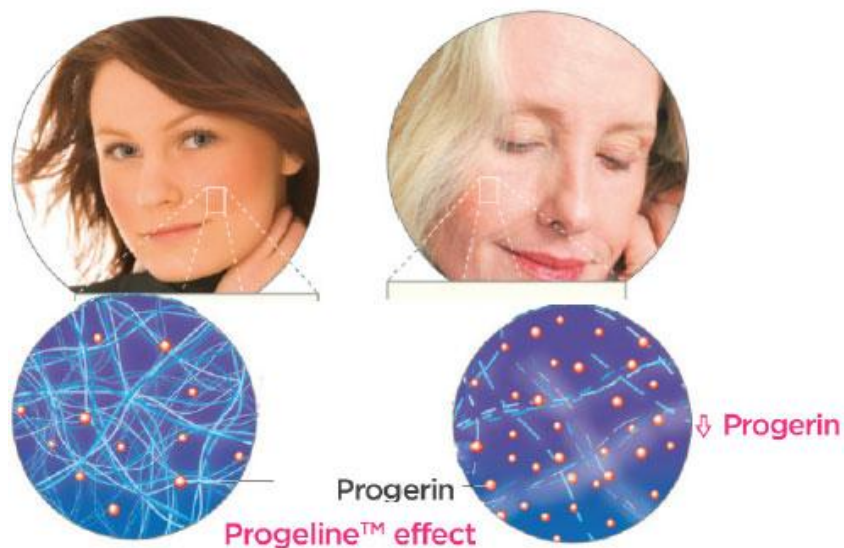
⁷⁰ Bradford method



پروژلین در غلظتهای ۰,۰۰۲۵٪ و ۰,۰۲۵٪ به شکل قابل توجهی (به ترتیب ۱۸٪ و ۲۱,۹٪) تولید پروژرین توسط فیبروبلاستها را کاهش داد.

نتیجه گیری

پروژلین تولید پروژرین را کاهش می دهد بنابراین پتانسیل خوبی برای به کارگیری به عنوان ماده اولیه در محصولات ضدپیری دارد.



۲-۲ مهار الاستاز توسط پروژلین در اکسپلانتهای سلولهای پوست انسان**INHIBITION OF ELASTASE ACTIVITY BY PROGELINE™ IN HUMAN SKIN EXPLANT**

منظور از فعالیت پروتئولیتیک، میزان کمی هضم^{۷۱} یک پروتئین (مثل کلاژن، الاستین و فیبرونکتین) یا یک گلیکوپروتئین^{۷۲} (مثل پروتئوگلیکان^{۷۳} یا گلیکوزآمینوگلیکان^{۷۴}) توسط یک آنزیم است. الاستین مهمترین عامل کشسانی پوست است و چون قابلیت نوسازی ندارد، از بین رفتن الاستین در پوست [غیر قابل جبران] و غیرقابل تکرار^{۷۵} است. الاستاز که یکی از پروتئازهای طبیعی پوست است، الاستین پوست را طی یک فرایند طبیعی و تعادلی^{۷۶} تجزیه می کند. البته، عواملی همچون افزایش سن، عوامل محیطی و پرتوهای فرابنفش این فرایند تعادلی را مختل نموده و به تخریب بیش از حد الاستین در اثر فعالیت بیش از حد الاستاز^{۷۷} منجر می شوند. بنابراین، با بسط و توسعه مهارکننده های الاستاز می توان از فیبرهای الاستین در برابر هضم بیش از حد توسط الاستاز محافظت نمود.

هدف

به منظور ارزیابی توان پروژلین در کاهش فعالیت الاستاز، هضم الاستاز در حضور الاستین طبیعی موجود در اکسپلانتهای پوست انسان مورد ارزیابی قرار گرفت. فیبرهای الاستین با رنگ ارگانیک ارسئین^{۷۸} رنگ آمیزی شد. میزان هضم این فیبرها با تکنیک های آنالیز تصاویر به صورت کمی اندازه گیری شد.

پروتکل

اکسپلانتهای پوستی^{۷۹} انسان در عمل جراحی پلاستیک از یک خانم ۴۸ ساله جداسازی شد و در این آزمایش به عنوان سوپسترا^{۸۰} مورد استفاده قرار گرفت. پروژلین در غلظتهای ۰.۰۲۵٪ تا ۰.۲۵٪ در حضور الاستاز در غلظت ۵۰۰ MU/mL آزمایش شد.

اکسپلانتهای پوستی در حضور یا غیاب پروژلین و ماده مهار کننده مرجع^{۸۱} در غلظتهای مختلف به مدت ۳۰ دقیقه پیش گرمخانه گذاری^{۸۲} شدند. الاستاز لوکوسیتی انسان^{۸۳}، ۳ ساعت قبل از آبکشی اضافه شد و با ارسئین نشانه گذاری گردید. هر یک از شرایط به صورت سه تایی^{۸۴} ارزیابی شد.

⁷¹ quantitative digestive action

⁷² glycoprotein

⁷³ proteoglycan

⁷⁴ glycosaminoglycan

⁷⁵ irreparable

⁷⁶ autoregulated

⁷⁷ overactivity of elastase

⁷⁸ Orcein

⁷⁹ Skin explant

⁸⁰ Substrate

⁸¹ Reference inhibitor

⁸² Pre incubation

⁸³ Human leucocyte elastase

رنگ آمیزی الاستین^{۸۵}: قطعات منجمدشده^{۸۶} اکسپلانتهای پوستی توسط ارسئین به منظور شناسایی فیبرهای الاستین به رنگ قرمز مایل به قهوه ای رنگ آمیزی شد.

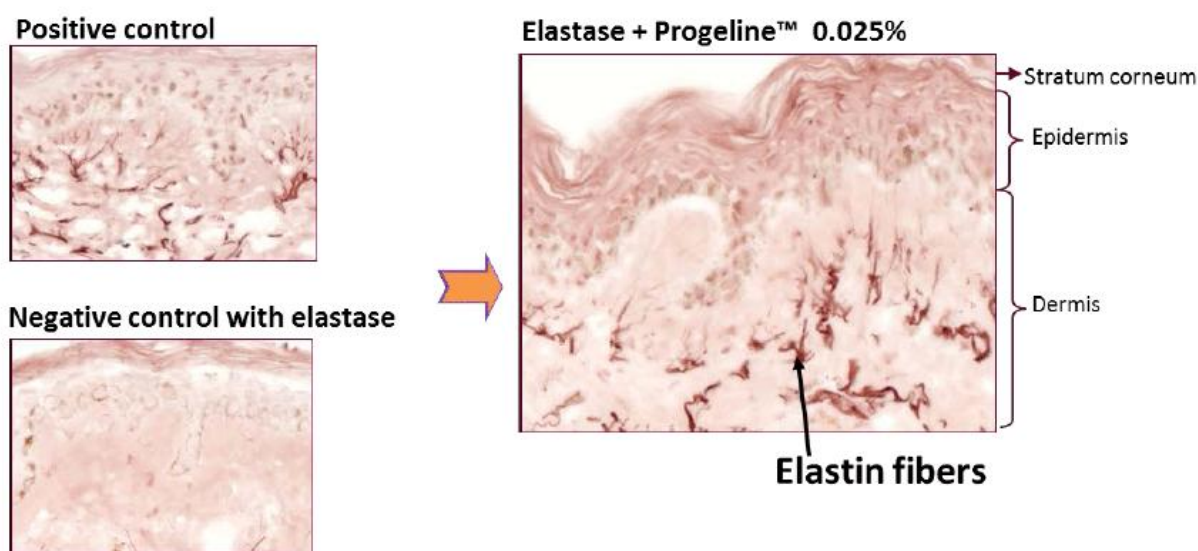
ارزیابی فعالیت الاستاز^{۸۷}: اندازه گیری فعالیت الاستاز با اندازه گیری کاهش میزان تجزیه فیبر الاستین انجام شد. هرچه فعالیت الاستاز افزایش یابد، الاستین بیشتری تجزیه می شود. اندازه گیری کمی فعالیت الاستاز با تکنیک های آنالیز تصویر در ۲ ناحیه مختلف از پوست انجام شد. برای هر بخش، ۱۰ عکس آنالیز شد. نتایج برحسب درصد مهار فعالیت الاستاز بیان شد. آزمون Dunn برای مقایسه آماری استفاده شد. ($P < 0.05$)

نتایج

کنترل مثبت^{۸۸} اکسپلانتهای پوستی عمل آوری نشده (بدون افزودن الاستاز و بدون مهارکننده)

کنترل منفی^{۸۹} اکسپلانتهای پوستی در حضور الاستاز (500 mU/mL)، بدون مهارکننده

مشاهدات میکروسکوپی بعد از نشانه گذاری فیبرهای الاستین با رنگ قرمز قهوه ای



تغییر رنگ فیبرهای الاستین موجود در بخش میان پوست به رنگ قرمز قهوه ای بعد از رنگ آمیزی الاستین قابل مشاهده است. (تصویر کنترل مثبت)

در اثر افزودن الاستاز به اکسپلانتهای فیبرهای الاستین در بخش میان پوست هضم و ناپدید گردید. (تصویر کنترل منفی)

⁸⁴ triplicate

⁸⁵ Elastin staining

⁸⁶ Cryosections

⁸⁷ Evaluation of elastase activity

⁸⁸ positive control

⁸⁹ negative control

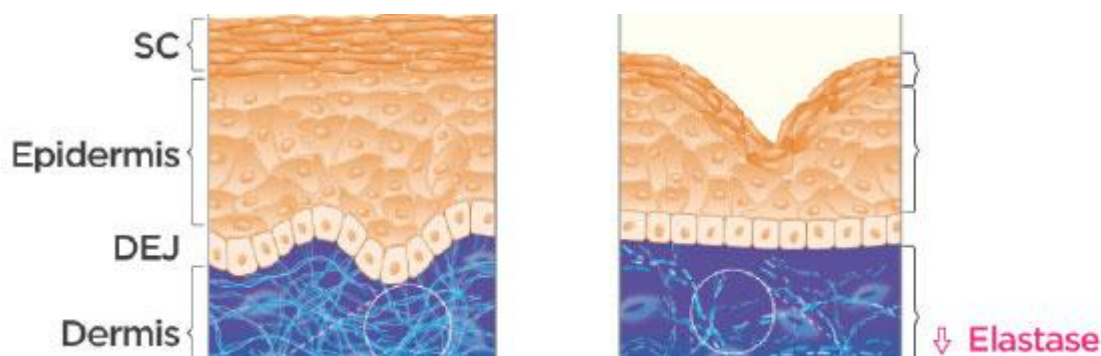
پیش عمل آوری^{۹۰} اکسپلانتهای پوستی با پروژلین، موجب مهار قابل توجه فعالیت الاستاز و جلوگیری از هضم فیبرهای الاستین گردید. (تصویر الاستین + پروژلین)

اندازه گیری های کمی با تکنیک های آنالیز تصاویر، مهار ۱۰۰ درصدی فعالیت الاستاز در حضور پروژلین با غلظت ۰,۲۵٪ را نشان داد.

نتیجه گیری

این آزمایش فعالیت بایومیمتیکِ الافین پروتئاز^{۹۱} را تأیید نمود. ضمناً نشان داده شد که پروژلین با قدرت و اثربخشی چشمگیری قادر به مهار فعالیت الاستاز و نتیجتاً بهبود سفتی و کشسانی پوست است.

پروژلین فعالیت الاستاز را کاهش داده و از الاستین محافظت می کند.



⁹⁰ Pre treatment

⁹¹ biomimetic activity of the elafin protease

۲-۳ تحریک سیندکان توسط کراتینوسیت‌های انسان

STIMULATION OF SYNDECAN BY HUMAN KERATINOCYTES

مقدمه

سیندکانها نوعی پروتئوگلیکان سولفات^{۹۲} هستند که در چسبندگی سلول به ماتریس^{۹۳} شرکت می‌کنند. همچنین به عنوان رسپتور کمکی فاکتورهای رشد^{۹۴}، نقش مهمی نیز در هم‌ایستایی^{۹۵} پوست دارند. ژن تولیدکننده سیندکانها در کراتینوسیت‌های پیرشده^{۹۶} به میزان کمتری بیان می‌شود.

هدف

تعیین اثر پروژلین بر تحریک سنتز سیندکان-۱ در کراتینوسیت‌های انسان

پروتکل

ماده بیولوژیکی: کراتینوسیت‌های انسان کشت داده شده در محیط کشت^{۹۷} DMEM حاوی مکمل^{۹۸} هایی مثل FCS (۱۰٪)، گلوتامین^{۹۹} (۱٪)، پنی سیلین/ استرپتومایسین^{۱۰۰} (۱٪) در انکوباتور رطوبت ساز^{۱۰۱} در اتمسفر ۹۵٪ هوا و ۵٪ دی اکسید کربن

ملکول تحت آزمون: پروژلین در غلظت های ۰.۰۰۰۲۵٪ تا ۰.۰۰۰۲۵٪

ارزیابی بیان سیندکان-۱: سلولهای عمل آوری شده و سلولهای عمل آوری نشده، با یک آنتی بادی تک دودمانی خاص^{۱۰۲} گرمخانه گذاری شدند. سلولها سپس با آنتی بادی ثانویه FITC (فلورسان سبز) به مدت یک ساعت گرمخانه گذاری شدند. سیگنال فلورسانس (در ۴۸۸ و ۵۲۰ نانومتر) با یک میکروسکوپ نوری و یک نرم افزار ویژه آنالیز شد. برای مقایسه های آماری از تست دانش آموز^{۱۰۳} استفاده شد. علامت ستاره (*) به معنای اختلاف معنادار با شرایط پایه^{۱۰۴} است.

نتایج

نتایج برحسب شدت فلورسانس^{۱۰۵} بیان شد که بیان [ژن تولید کننده] سیندکان-۱^{۱۰۶} در سلولها را نشان می دهد.

⁹² Transmembrane heparin sulfate proteoglycans

⁹³ Focal Adhesion

⁹⁴ Coreceptors for growth factors

⁹⁵ Homeostasis

⁹⁶ Aged keratinocytes

⁹⁷ Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)

⁹⁸ supplement

⁹⁹ Glutamine

¹⁰⁰ penicillin/streptomycin

¹⁰¹ humidified incubator

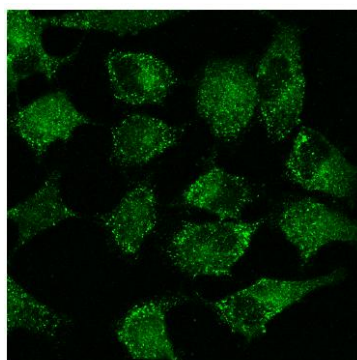
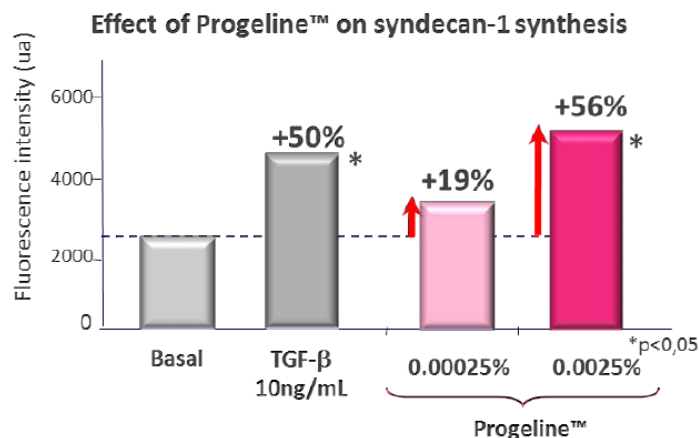
¹⁰² specific monoclonal antibody

¹⁰³ Student test

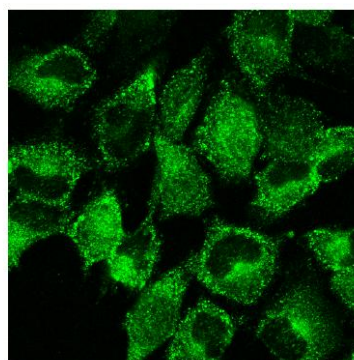
¹⁰⁴ basal condition

¹⁰⁵ fluorescence intensity

¹⁰⁶ syndecan-1 expression



Basal



Progeline™ 0.0025%

افزایش بیان سیندکان-۱ در سلولهای عمل آوری شده با پروژلین به وضوح دیده می شود. اثر تحریکی^{۱۰۷} این پپتید +۱۹٪ و +۵۶٪ بود که معادل اثر تحریکی TGF-β، تحریک کننده شناخته شده سنتز سیندکان (کنترل مثبت) می باشد.

نتیجه گیری

از آنجا که تولید سیندکان-۱ توسط کراتینوسیتها در سالخوردگی کاهش می یابد، توانایی پروژلین در افزایش سنتز سیندکان، اثربخشی اش را در حمایت از چسبندگی سلول به ماتریس^{۱۰۸} و در نتیجه جلوگیری از پیدایش علائم پیری پوست مثل افتادگی^{۱۰۹} را اثبات می کند.

¹⁰⁷ Stimulatory effect

¹⁰⁸ cell matrix adhesion support

¹⁰⁹ Sagging

۲-۴ مهار فعالیت آنزیمهای MMP 1, MMP 3, MMP 9

مقدمه

ماتریس متالوپروتئینازها (MMPs) خانواده مهمی از اندوپپتیدازهای فلزی^{۱۱۰} هستند که بخش مهمی از آنزیمهای تجزیه کننده ماتریس برون سلولی^{۱۱۱} (ECM) را تشکیل می دهند. خانواده MMP ها اعضای مختلفی دارد که هر یک اثرات مختلفی دارند:

- اثر MMP-1 و MMP-8 تجزیه کلاژنهای بین سلولی^{۱۱۲} (نوع ۱ و ۳) است.
- اثر MMP-2 و MMP-9 تجزیه کلاژنهای تغییر ماهیت داده^{۱۱۳} و کلاژنهای نوع ۴ و ۵ است.
- اثر MMP-3 فعال سازی MMP های دیگر و همچنین تجزیه کلاژنهای ۳، ۴، ۹، ۱۰ و پروتئینهای ECM (فیبرونکتین^{۱۱۴}، لامینین^{۱۱۵}، الاستین و ...) است.

MMP ها در پوست، توسط سلولهای مختلفی مانند کراتینوسیتها، فیبروبلاستها، ماکروفاژها^{۱۱۶} و سلولهای درون پوش^{۱۱۷} تولید می شوند. یکی از علت های پیری پوست تجزیه بیش از حد اجزاء بافت پیوندی^{۱۱۸} است که MMP ها در آن نقش دارند. در پوست افراد سالخورده همچنین میزان تولید MMP ها افزایش پیدا^{۱۱۹} می کند.

پرتوهای فرابنفش نیز MMP ها را به شدت تحریک می کنند. در مطالعه ای که در شرایط In vivo صورت گرفت، نشان داده شد که پوست قرار گرفته در معرض پرتوهای فرابنفش، MMP-1، MMP-2 و MMP-9 بیشتری دارد.

اصول

در حضور سوبسترایی که نسبت به فلورسنت ویژه گر^{۱۲۰} است، MMP های تخلیص شده^{۱۲۱} انسان فعال سازی شدند تا فعالیتشان با فلورومتر^{۱۲۲} اندازه گیری شود. اثر پروژلین در مهار فعالیت MMP ها (تجزیه سوبسترا^{۱۲۳}) ارزیابی شد.

پروتکل

مواد بیولوژیکی: با روشی که شیموکاوا و همکاران^{۱۲۴} شرح دادند، MMP-1 و MMP-9 از سلولهای انسان جداسازی و و تخلیص شد و در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

¹¹⁰ metal-dependent endopeptidases

¹¹¹ extracellular matrix

¹¹² interstitial

¹¹³ denatured

¹¹⁴ fibronectin

¹¹⁵ laminins,

¹¹⁶ macrophages

¹¹⁷ endothelial cells

¹¹⁸ connective tissue components

¹¹⁹ Up-regulate

¹²⁰ fluorescent specific substrate

¹²¹ Purified

¹²² fluorometer

¹²³ degradation of substrate

¹²⁴ Shimokawa et al.

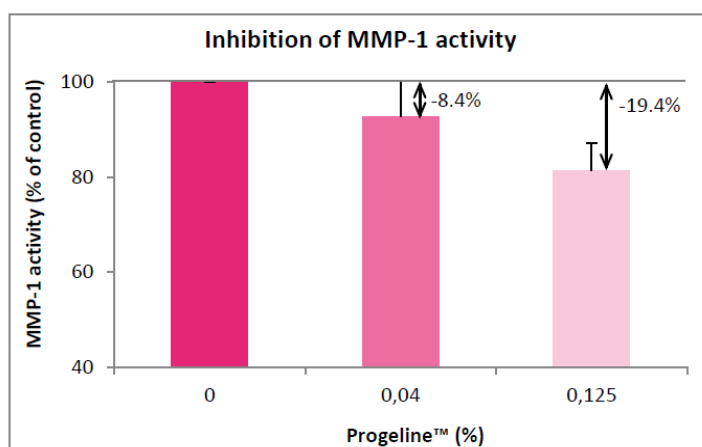
ملکولهای تحت آزمون: پروژلین در غلظتهای ۰,۰۰۱٪ تا ۰,۷۵٪ به عنوان ملکول تحت بررسی مورد آزمایش قرار گرفت.

حلال حامل^{۱۲۵} به عنوان کنترل منفی^{۱۲۶} برای اندازه گیری میزان عوامل مزاحم^{۱۲۷} استفاده شد.

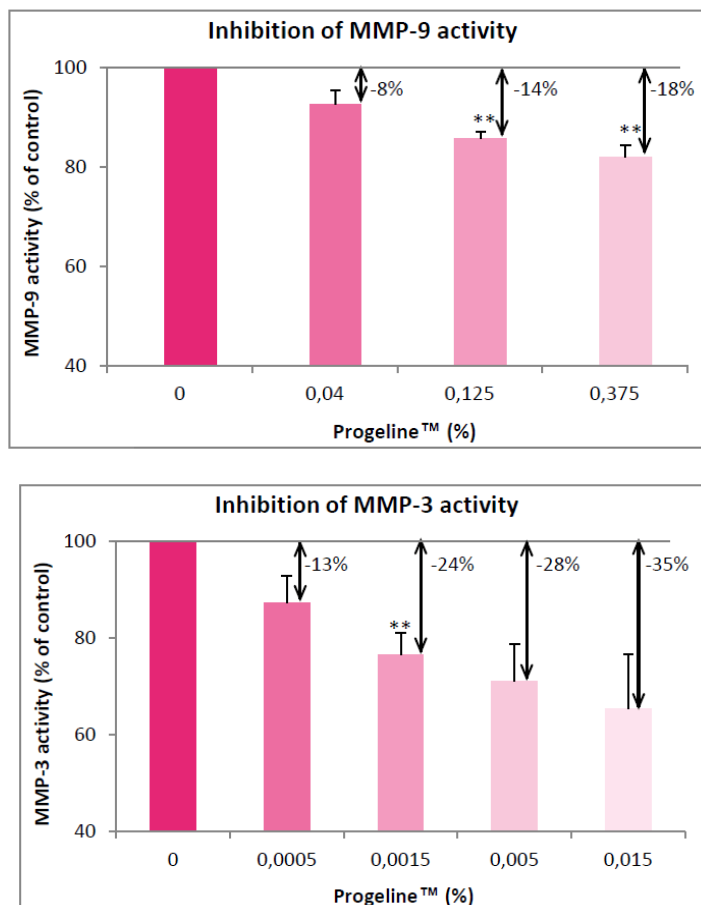
ارزیابی فعالیت آنزیمی: اندازه گیری سینتیک فلورسانسی^{۱۲۸} (انگیزش^{۱۲۹} در ۳۳۰ nm، پراکنش^{۱۳۰} در ۴۰۰ nm) با فلورومتر^{۱۳۱} (ساخت آمریکا) بعد از ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه انجام شد. همه اندازه گیری ها ۲ بار تکرار شد. شدت مهار با مقایسه فعالیت آنزیمی در حضور و در غیاب پروژلین محاسبه شد.

نتایج

نتایج برحسب شدت فلورسانس^{۱۳۲} بیان شد و برحسب درصد مهار^{۱۳۳} ترجمه شد.



-
- ¹²⁵ solvent vehicle
 - ¹²⁶ negative control
 - ¹²⁷ noise level
 - ¹²⁸ Fluorescence kinetic measurements
 - ¹²⁹ excitation
 - ¹³⁰ emission
 - ¹³¹ fluorometer
 - ¹³² fluorescence intensity
 - ¹³³ inhibition percentage



در حضور پروژلین، فعالیت MMP ها به شدت مهار شد. بیشترین اثر پروژلین در مهار MMP-3 بود. این نکته حائز اهمیت است چراکه MMP-3 در فعال سازی MMP های دیگر نیز نقش دارد.

نتیجه گیری

پروژلین فعالیت سه MMP خاص را کاهش داده و ابزار مناسبی برای جلوگیری از تخریب بیش از حد پروتئینهای ماتریس به شمار می آید. پروژلین همچنین با مهار MMP-3 از تولید Pro-MMP های پنهان^{۱۳۴} نیز پیشگیری می کند.

پروژلین تجزیه ECM ها را کاهش داده و از پوست در برابر افتادگی و از بین رفتن خاصیت کشسانی به بهترین شکل محافظت می کند.

**Progeline™ reduces ECM breakdown for maximal protection
against sagging and loss of elasticity**

۲-۵ کشش شبکه سه بعدی کلاژن توسط فیبروبلاستهای انسان

CONTRACTION OF 3D COLLAGEN LATTICES BY HUMAN FIBROBLASTS

مقدمه

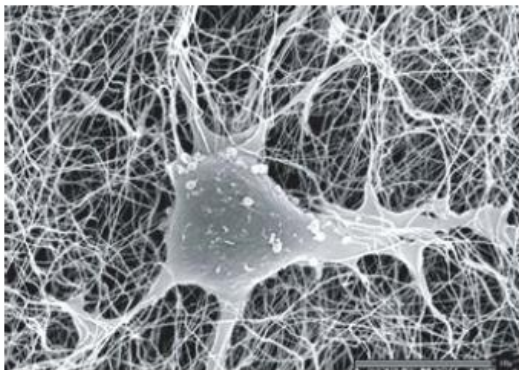
فیبروبلاست های پوست توسط ماتریس برون سلولی (ECM) احاطه شده اند. ECM نقش مهمی در بیان ژن^{۱۳۵}، مورفولوژی^{۱۳۶}، رشد، حرکت^{۱۳۷} و تمایز سلولها دارد. کلاژن ۱ فراوانترین پروتئین ECM است. نیروهای کششی که فیبروبلاستها به ECM وارد می کنند، نیروهای کششی سلول^{۱۳۸} نامیده می شود. با افزایش سن، فیبروبلاست های پوست سالخورده نیروهای کششی کمتری به ECM وارد می کنند که امر موجب تغییر در ساختار پوست شده و به پیدایش چروکها و افتادگی پوست می انجامد.

هدف

تعیین اثر پروژلین در افزایش نیروهای کششی وارد شده به ماتریس سه بعدی کلاژن^{۱۳۹} توسط فیبروبلاستهای نرمال

پروتکل

اصول: در اثر نیروهایی که فیبروبلاست به ماتریس کلاژن وارد می کند، سلول به داخل ماتریس نفوذ کرده و در رشته های آن گره می خورد.



فیبروبلاست انسان در حال کشیدن شبکه سه بعدی کلاژن. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی^{۱۴۰}، سلولها را درون شبکه کلاژن نشان می دهد. ملحقات سلول^{۱۴۱} به داخل ماتریس نفوذ کرده و درون رشته های آن گره می خورند. اندازه گیری نیروهای کششی با روشی که دلوی و همکاران^{۱۴۲} شرح داده اند انجام شد.

ماده بیولوژیکی: کلاژن ۱ (2 mg/mL) حل شده در بافر ویژه^{۱۴۳} به فیبروبلاست انسان اضافه شد و در دمای °C ۳۷ به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد.

¹³⁵ Gene expression

¹³⁶ Morphology

¹³⁷ motility

¹³⁸ cellular contraction

¹³⁹ 3D collagen matrices

¹⁴⁰ Scanning electron microscopic image

¹⁴¹ Cell extensions

¹⁴² Delvoye et al.

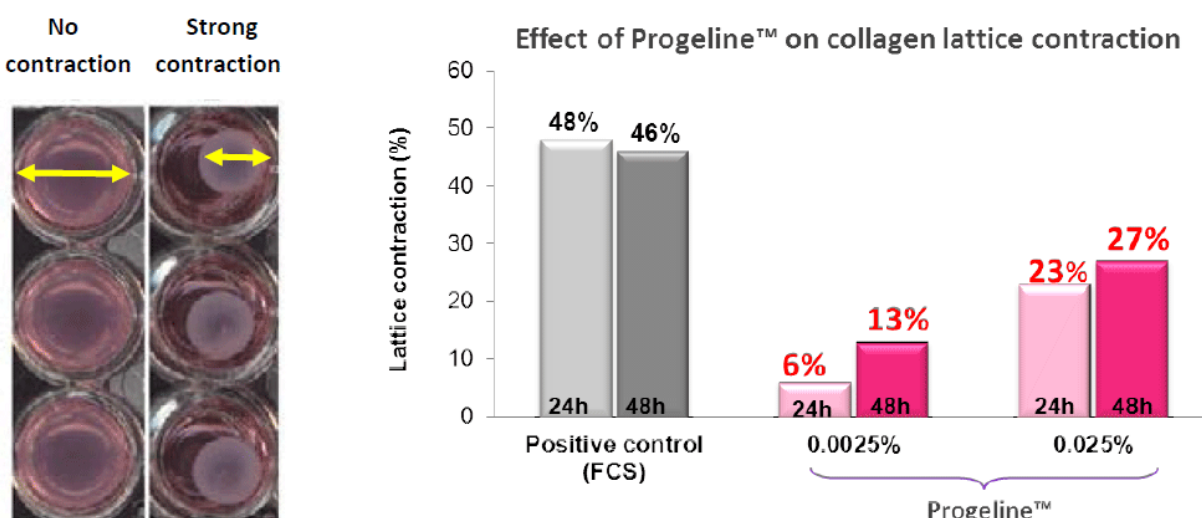
¹⁴³ specific buffer

ملکولهای تحت آزمون: پروژلین در غلظت ۰.۰۰۲۵٪ و ۰.۰۰۲۵٪ به محلول کشت اضافه شد. سرم جنین گوساله^{۱۴۴} به علت توانایی اش در اعمال نیروهای کششی به ماتریس کلاژن به عنوان کنترل مثبت^{۱۴۵} استفاده شد.

روش ارزیابی: برای ارزیابی اثر فیبروبلاستها در منقبض کردن ماتریس سه بعدی کلاژن، ظروف کشت روی یک خط کش مدرج شفاف^{۱۴۶} با زمینه تیره قرار داده شد و قطر متوسط شبکه کلاژن اندازه گیری شد. برای هر آزمایش قطر ۳ ماتریس اندازه گیری شد و میانگین ۳ قطر به دست آمده به عنوان قطر متوسط ماتریس در نظر گرفته شد.

نتایج

شبکه سه بعدی کلاژن^{۱۴۷} پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در حضور و در غیاب ماده منقبض کننده^{۱۴۸} در شکل زیر نمایش داده شده است.



پروژلین میزان نیروهای کششی وارد آمده به ماتریس سه بعدی سلول توسط فیبروبلاستها را به شکلی وابسته به دوز^{۱۴۹} و وابسته به زمان^{۱۵۰} افزایش داد. این یعنی تقویت ماتریس پوست^{۱۵۱} و در نتیجه تقویت چارچوب ساختاری پوست^{۱۵۲}

نتیجه گیری

پروژلین با افزایش کشش [شبکه] کلاژن، سفتی و قوام پوست را بازیابی می کند.

Progeline™ induces collagen contraction to restore tone and firmness to the skin

¹⁴⁴ Fetal Calf Serum (FCS)

¹⁴⁵ positive control

¹⁴⁶ transparent metric ruler

¹⁴⁷ 3D collagen lattice

¹⁴⁸ contractile product

¹⁴⁹ dose dependent

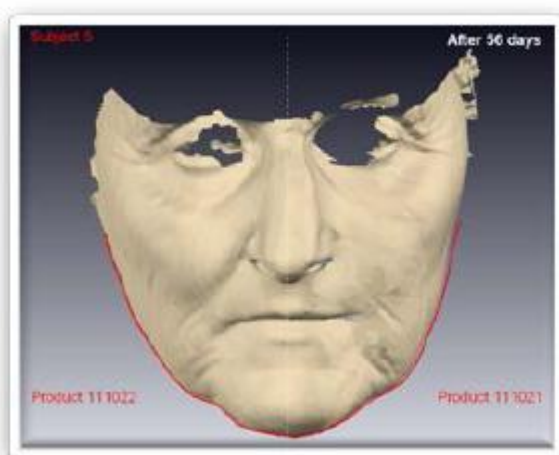
¹⁵⁰ time dependent

¹⁵¹ strengthening of the dermal matrix

¹⁵² architectural framework

۳- ارزیابی بالینی

Clinical Study



۳-۱ ارزیابی *In vivo* اثر ضدافتادگی: فرینج پروجکشن گوشه بیرونی فک

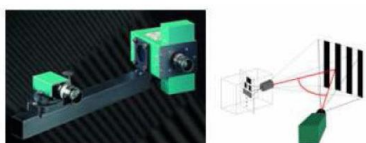
EVALUATION OF ANTI-SAGGING EFFECT: *In vivo* fringe projection of the jawlines

هدف

ارزیابی *In vivo* اثر پروژلین در کاهش افتادگی^{۱۵۳} و شل شدگی^{۱۵۴} پوست با مشاهده تراز گوشه بیرونی فک^{۱۵۵}

پروتکل

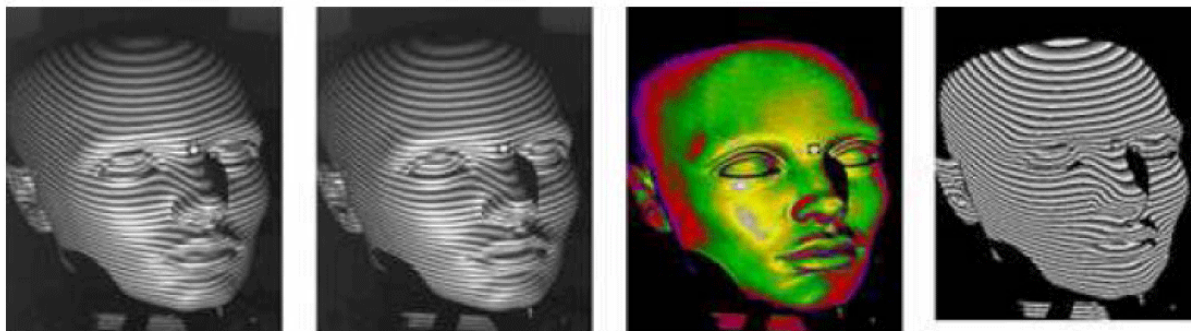
۱۰ داوطلب سالم ۵۴ تا ۶۴ ساله (میانگین سنی ۵۹ سال) به مدت ۵۶ روز، صبح و عصر کرم حاوی ۲ درصد پروژلین را یک طرف صورت و گردن و کرم حاوی پلاسیبو^{۱۵۶} را روی طرف دیگر صورت و گردن استفاده نمودند. در روزهای صفر، ۲۸ و ۵۶ مورفولوژی صورت با روش پروفیلومتری فرینج پروجکشن^{۱۵۷} که یک روش *In vivo* است ارزیابی شد.



Fringe projection sensors

سنسور اندازه گیری این دستگاه دارای یک پروژکتور هالوژنی^{۱۵۸} است که با یک دوربین CDD با وضوح بالا تنظیم شده و نتایج آن با استفاده از نرم افزار Optocat آنالیز می شود.

سیستم نورپردازی^{۱۵۹} این دستگاه به یک دوربین ویدئویی متصل بوده و قادر به تصویر افکنی متوالی از خطوط حاشیه^{۱۶۰} ای شیء مورد نظر است. اطلاعات سه بعدی در مورد تصویر توسط دوربین دیجیتالی ثبت می شود.



¹⁵³ Sagging

¹⁵⁴ Slacking

¹⁵⁵ jawline level

¹⁵⁶ placebo

¹⁵⁷ Fringe projection Profilometric technique

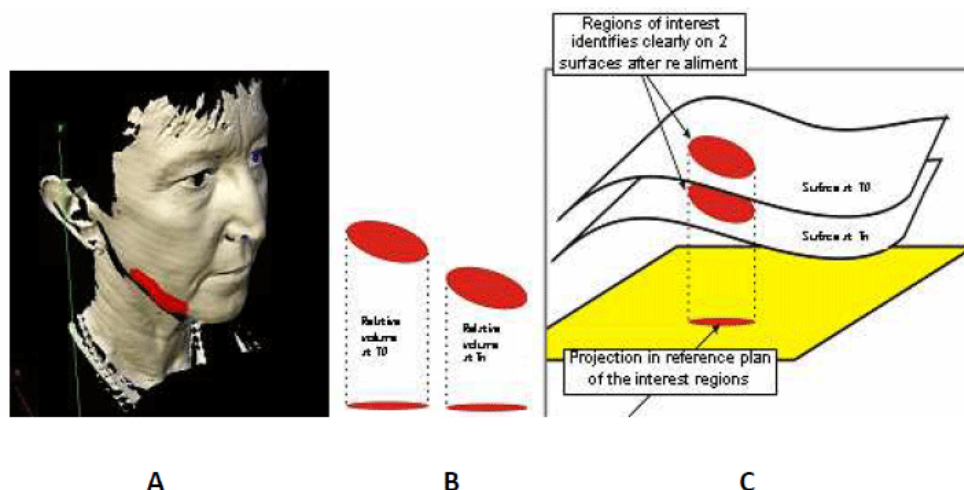
¹⁵⁸ Halogen projector

¹⁵⁹ lighting system

¹⁶⁰ projection of a sequence of lattice lines (fringes)

روش داده برداری^{۱۶۱}

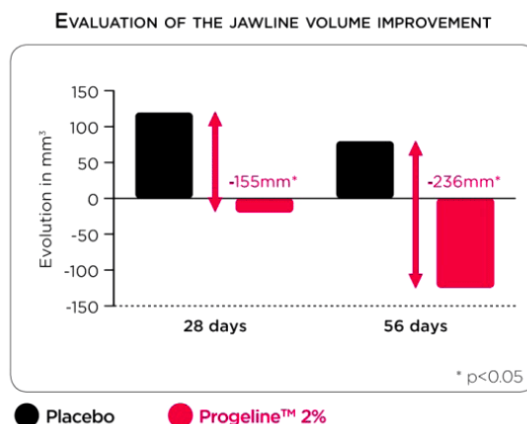
در زمانهای مختلف سینتیک ارزیابی^{۱۶۲} (روزهای ۲۸ و ۵۶)، ناحیه مشخصی از پوست صورت مورد ارزیابی قرار گرفت و با روز صفر (T0) مقایسه شد.



A: تعیین ناحیه مشخصی از صورت. داده برداری از پوست سایر داوطلبین نیز از همین ناحیه انجام می شود.
B-C: اندازه گیری حجم فضای قرارگرفته بین سطح ناحیه مشخصی از پوست و نگاشت^{۱۶۳} آن در صفحه مرجع^{۱۶۴}

نتایج

نتایج برحسب توسعه حجم ناحیه بیرونی فک^{۱۶۵} (mm³) بعد از ۲۸ و ۵۶ روز درمان با پلاسیبو و پروژلین بیان شد.



¹⁶¹ Acquisition methodology

¹⁶² different times of the kinetics

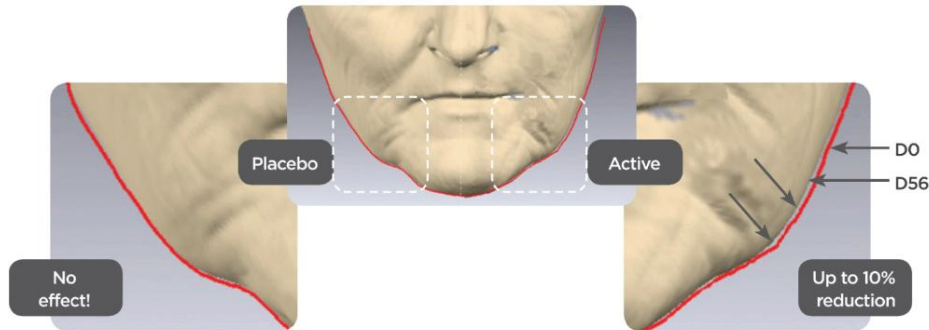
¹⁶³ Projection

¹⁶⁴ reference plane

¹⁶⁵ evolution of the jawline volume

همانطور که نشان داده شده، حجم ناحیه بیرونی فک^{۱۶۶} در داوطلبین سالم، پس از ۴ و ۸ هفته درمان با پروژلین ۰.۶٪ و ۳.۴٪ کاهش یافته است. در حالیکه درمان با پلاسیبو بی تاثیر بوده و گاهی افتادگی پوست بیشتر هم شده است. تنها پس از ۲۸ روز استفاده، میزان کاهش حجم به 493 mm^3 (۱۰٪-) رسید.

تصاویر توصیفی^{۱۶۷}



نتیجه گیری

کاهش حجم ناحیه بیرونی فک در اثر استفاده از پروژلین نشان می دهد که این پپتید نقش مهمی در کاهش علائم پیری بخصوص اثرات مرتبط با افتادگی و شل شدگی پوست در اثر از بین رفتن ساختار^{۱۶۸} و سازمان^{۱۶۹} بخش میانی پوست^{۱۷۰} ایفا می کند.

پروژلین حجم ناحیه بیرونی فک را پس از تنها ۲۸ روز به شکل معناداری کاهش می دهد.

Progelin™ significantly reduces the jawline volume after only 28 days



¹⁶⁶ volume of the jawline

¹⁶⁷ Illustrative digital photographs

¹⁶⁸ unstructured

¹⁶⁹ disorganized

¹⁷⁰ Derm

۲-۳ ارزیابی استحکام و کشسانی پوست : کیوتومتری

EVALUATION OF FIRMNESS AND ELASTICITY: Cutometry

هدف

ارزیابی اثر پروژلین بر ویژگی های مکانیکی پوست: استحکام، الاستیسیته و ویسکوالاستیسیته به صورت In vivo

پروتکل

۱۳ داوطلب سالم ۵۴ تا ۶۶ ساله (میانگین سنی تقریباً ۶۰ سال) به مدت ۵۶ روز کرم حاوی ۲ درصد پروژلین یا پلاسیبو را دو طرف صورت و گردن خود استفاده کردند.



در روز ۰ و ۲۸، استحکام و الاستیسیته پوست گونه های هر داوطلب در دو طرف صورت (پلاسیبو و پروژلین) با استفاده از دستگاه کیوتومتر^{۱۷۱} (مدل SEM575) اندازه گیری شد.

مبنای این روش ایجاد فشار منفی^{۱۷۲} (۳۰ میلی بار) روی سطح پوست و اندازه گیری حرکت عمودی^{۱۷۳} ایجاد شده روی پوست است. این حرکت با یک سیستم اپتیکی^{۱۷۴} (متشکل از یک دیود فروسرخ^{۱۷۵}، ۲ منشور^{۱۷۶} و یک سنسور نوری^{۱۷۷}) تعیین می شود. کیفیت نور ثبت شده توسط سنسور متناسب با حرکت سطح پوست است. با اندازه گیری حرکت عمودی سطح پوست، ۳ پارامتر زیر را می توان تعیین نمود:

استحکام^{۱۷۸} پوست: سفتی، کشیدگی^{۱۷۹} و قوام^{۱۸۰}

الاستیسیته^{۱۸۱}: ظرفیت کشیده شدن پوست^{۱۸۲}

ویسکوالاستیسیته^{۱۸۳}: ظرفیت بازگشت پوست به وضعیت اولیه^{۱۸۴}

تصاویر دیجیتال گرفته شده از صورت: عکس برداری در شرایط کاملاً تکرارپذیر^{۱۸۵} از نظر شرایط نوری انجام شد.

¹⁷¹ Cutometer

¹⁷² negative pressure

¹⁷³ vertical movement

¹⁷⁴ optical system

¹⁷⁵ infrared diode

¹⁷⁶ prisms

¹⁷⁷ light sensor

¹⁷⁸ Firmness

¹⁷⁹ tightness

¹⁸⁰ tonicity

¹⁸¹ Elasticity

¹⁸² Capacity of the skin to stretch

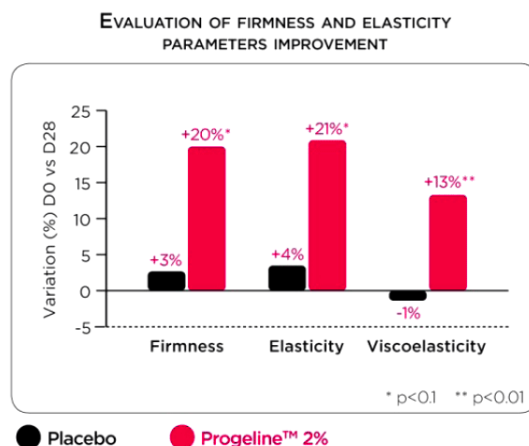
¹⁸³ Viscoelasticity

¹⁸⁴ Capacity of the skin to go back to its original state

¹⁸⁵ Completely reproducible lighting conditions

نتایج

نتایج برحسب تغییر ۳ پارامتر یادشده در روز ۲۸ پس از درمان با پروژلین یا پلاسیبو نسبت به روز صفر (قبل از درمان) نمایش داده شد.



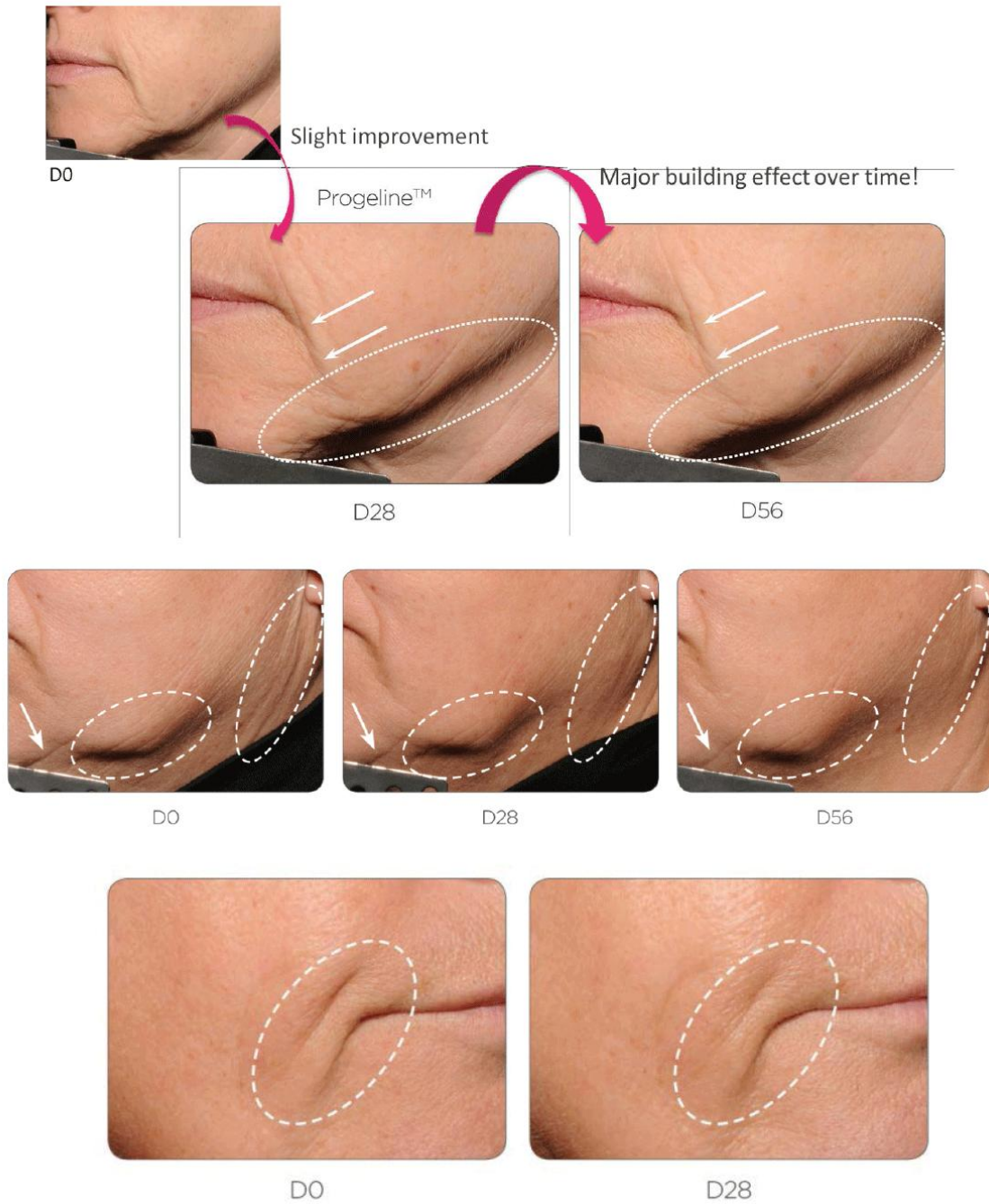
همانطور که نشان داده شده، پروژلین استحکام، الاستیسیته و ویسکوالاستیسیته پوست را ۲۰٪، ۲۱٪ و ۱۳٪ اصلاح می کند.

در ۸۸٪ داوطلبین، بهبودی حاصل شد.

Progeline™ significantly increases skin firmness, elasticity and viscoelasticity, attesting its efficacy on skin slackening and sagging

پروژلین استحکام، الاستیسیته و ویسکوالاستیسیته پوست را به شکل معناداری افزایش می دهد که این نتایج، اثربخشی پروژلین را بر [رفع] شل شدگی و افتادگی پوست گواهی می کند.

Before and after pictures

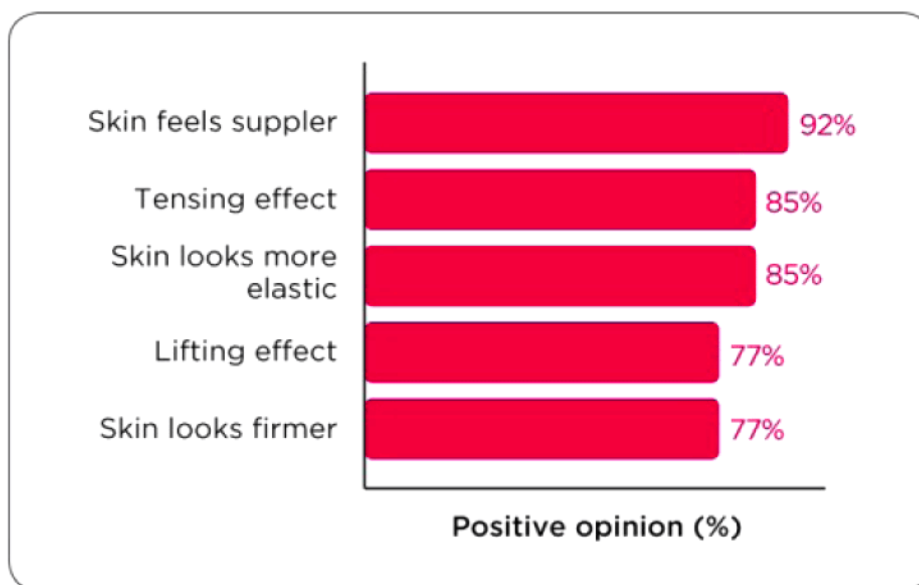


۳-۳ ارزیابی توسط مصرف کننده

هدف از این آزمایش ارزیابی درک مصرف کننده از اثر پروژلین بر استحکام و رفع افتادگی پوست پس از ۵۶ روز استفاده بود.

در روز ۵۶ از داوطلبین خواسته شد تا نظر کلی خود را از اثربخشی محصول با پرکردن پرسشنامه ای شامل سوالات انتها بسته^{۱۸۶} و انتها باز^{۱۸۷} ابراز کنند.

پاسخ مصرف کنندگان به سوالات انتها بسته:



پاسخ مصرف کنندگان به سوالات انتها باز

در این قسمت نظرات فوری^{۱۸۸} مثبت یا منفی مصرف کننده در خصوص ویژگی های اساسی^{۱۸۹} محصول پرسیده و ارزیابی شد. نظرات فوری مثبت مصرف کنندگان: «این محصول دارای ویژگی های زیر است:»

- موثر بر سفتی^{۱۹۰} پوست
- موثر بر صافی^{۱۹۱} پوست
- موثر بر لیفتینگ^{۱۹۲} پوست

¹⁸⁶ Close end questions

¹⁸⁷ Open end questions

¹⁸⁸ Spontaneous comment

¹⁸⁹ Principal characteristics

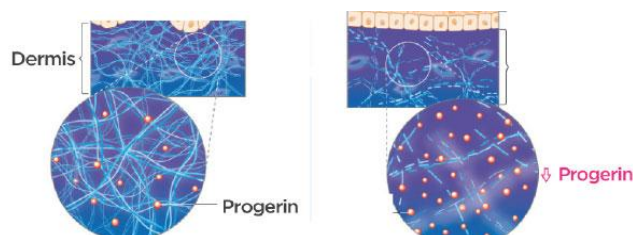
¹⁹⁰ Firmness

¹⁹¹ Smoothness

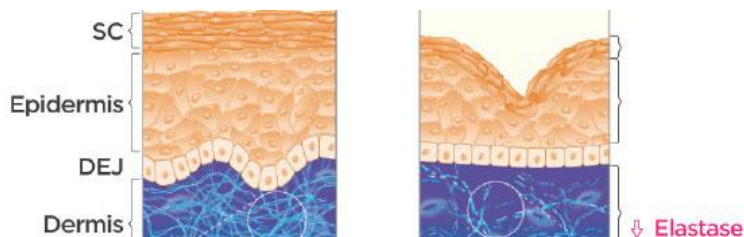
¹⁹² Lifting

۳-۴ خلاصه آزمایشات اثربخشی و بالینی

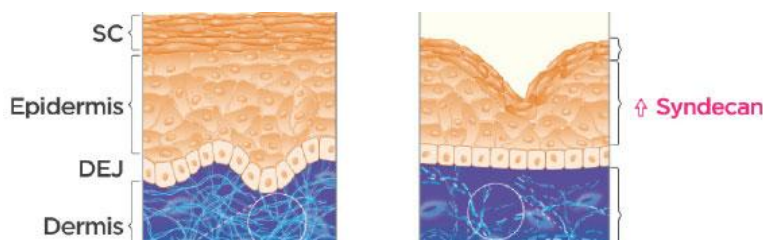
- در اولین آزمایش، پروژرین در محیط کشت حاوی فیبروبلاست، در غیاب یا حضور پروژلین با روش الیزا^{۱۹۳} به صورت کمی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که پروژلین در غلظتهای ۰,۰۲۵٪ و ۰,۰۲۵٪ به شکل قابل توجهی (به ترتیب ۱۸٪ و ۲۱,۹٪) تولید پروژرین توسط فیبروبلاستها را کاهش می دهد.



- در آزمایش دیگری، به منظور ارزیابی توان پروژلین در کاهش فعالیت الاستاز، هضم الاستاز در حضور الاستین طبیعی موجود در اکسپلانتهای رنگ آمیزی شده پوست انسان مورد ارزیابی قرار گرفت اندازه گیری های کمی انجام شده با تکنیک های آنالیز تصاویر، مهار ۱۰۰ درصدی فعالیت الاستاز در حضور پروژلین با غلظت ۰,۲۵٪ را نشان داد.



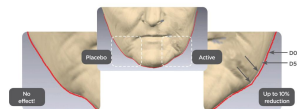
- در آزمایش بعدی، اثر پروژلین بر تحریک سنتز سیندکان-۱ در کراتینوسیت های انسان مورد ارزیابی قرار گرفت. اثر تحریکی^{۱۹۴} این پپتید در افزایش بیان سیندکان-۱ در سلولهای عمل آوری شده با پروژلین در غلظت های ۰,۰۰۰۲۵٪ تا ۰,۰۰۲۵٪ به ترتیب ۱۹٪+ و ۵۶٪+ بود که دومی تقریباً معادل اثر تحریکی $TGF-\beta$ ، تحریک کننده شناخته شده سنتز سیندکان می باشد.



¹⁹³ ELISA assay

¹⁹⁴ Stimulatory effect

- اثر پروژلین در مهار فعالیت متالوپروتئینازها با اندازه گیری اثر این آنزیمها در تجزیه سوبسترای که نسبت به فلورسنت ویژه گر^{۱۹۵} است با تکنیک فلورومتر^{۱۹۶} ارزیابی شد. نتایج نشان دادند که در حضور پروژلین، فعالیت MMP ها به شدت مهار می شود. بیشترین اثر پروژلین در مهار MMP-3 بود. این نکته حائز اهمیت است چراکه MMP-3 در فعال سازی MMP های دیگر نیز نقش دارد.
- اثر پروژلین در افزایش نیروهای کششی وارد شده به ماتریس سه بعدی کلاژن^{۱۹۷} توسط فیبروبلاستهای نرمال ارزیابی شد. نشان داده شد که پروژلین میزان نیروهای کششی وارد آمده به ماتریس سه بعدی سلول توسط فیبروبلاستها را به شکلی وابسته به دوز^{۱۹۸} و وابسته به زمان^{۱۹۹} افزایش می دهد.
- اثر پروژلین در کاهش افتادگی^{۲۰۰} و شل شدگی^{۲۰۱} پوست با مشاهده تراز گوشه بیرونی فک^{۲۰۲} با روش پروفیلومتری فرینج پروجکشن^{۲۰۳} که یک روش *In vivo* است ارزیابی شد. حجم ناحیه بیرونی فک^{۲۰۴} در داوطلبین سالم، پس از ۴ و ۸ هفته درمان با پروژلین ۰٫۶٪ و ۳٫۴٪ کاهش یافت. در حالیکه درمان با پلاسبیو بی تاثیر بوده و گاهی افتادگی پوست بیشتر هم شده است. تنها پس از ۲۸ روز استفاده، میزان کاهش حجم به 493 mm^3 (-۱۰٪) رسید.



- با استفاده از دستگاه کیوتومتر^{۲۰۵} اثر پروژلین بر ویژگی های مکانیکی پوست (استحکام، الاستیسیته و ویسکوالاستیسیته) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که پروژلین استحکام، الاستیسیته و ویسکوالاستیسیته پوست را به ترتیب ۲۰٪، ۲۱٪ و ۱۳٪+ اصلاح می کند.



- ارزیابی توسط مصرف کننده ها، رضایت مندی مشتریان را از تاثیری که پروژلین بر استحکام و رفع افتادگی پوست پس از ۵۶ روز نشان داد.

¹⁹⁵ fluorescent specific substrate

¹⁹⁶ fluorometer

¹⁹⁷ 3D collagen matrices

¹⁹⁸ dose dependent

¹⁹⁹ time dependent

²⁰⁰ Sagging

²⁰¹ Slacking

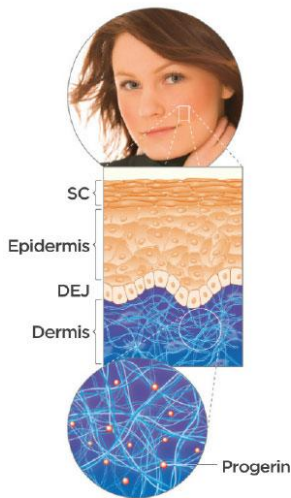
²⁰² jawline level

²⁰³ Fringe projection Profilometric technique

²⁰⁴ volume of the jawline

²⁰⁵ Cutometer

پوست جوان و شاداب Young and healthy skin...



Epidermis-DEJ level: در سطح اپیدرم و فصل مشترک

Thick Epidermis = proper skin barrier

↑ Syndecan = good epidermal cohesion = skin resistance and tightness

↑ HA = good hydration and support

Wavy DEJ = attaches the epidermis to the dermis, cells communication & nutrients exchanges

Dermis level: در سطح درم

↑ collagens = gives the skin its strenght

↑ elastin = gives the skin its elasticity

Aging marker: Low progerin concentration = no senescence

در پوست جوان غلظت پروژرین کم است بنابراین پیری سلولی وجود ندارد

پوست سالخورده



Wrinkles formation
Skin sagging & slacking
Loss of radiance
Skin dryness

Remodelling effect & wrinkles reduction

اثربخشی پروژلین در کاهش چروک ها و شکل دهی مجدد پوست صورت

Epidermis-DEJ level: در سطح اپیدرم و فصل مشترک

↓ thickness = less resistance

↓ syndecan = less cell cohesion ← اثربخشی پروژلین در افزایش سنتز سیندکانها

↓ HA = less hydration & support

DEJ flattening

Dermis level: در سطح درم

↓ collagens = loss of tightness ← اثربخشی پروژلین در کشیدن شبکه کلاژن

↓ elastin = loss of elasticity ← اثربخشی پروژلین در مهار الاستاز

↑ MMPs = fibers degradation ← اثربخشی پروژلین در مهار MMPها

Aging marker:

↑ progerin accumulation = senescence ← Reduction of progerin production

اثربخشی پروژلین در کاهش تولید پروژرین

ترجمہ و تدوین: احسان حسنانی

www.hosnani.com

۴- اطلاعات فنی

۴-۱ کاربردهای آرایشی

- Anti-aging
- Firming care
- Remodelling skin care
- Alternative to surgery
- Skin care for mature skin
- Men's care
- Body care
- Post-pregnancy care
- محصولات ضد پیری
- محصولات افزایش دهنده استحکام پوست
- محصولات شکل دهنده پوست
- جایگزین جراحی
- مراقبت از پوست سالخورده
- محصولات بهداشت شخصی آقایان
- محصولات پس از زایمان



۴-۲ راهنمای استفاده

دوز پیشنهادی:

- Intensive treatment: 2% درمان سریع
- Body care: 1% محصولات بدن
- Preventive care: 0.5–2% درمان پیشگیرانه

سهولت استفاده

تری فلورواستیل پپتید-۲ از آمینو اسیدهای طبیعی هیدروفیل تشکیل شده و حلالیت بالایی در مدیوم های آبی^{۲۰۶}، گلیسرین، گلیکول و اتانول دارد. بنابراین استفاده از پروژلین آسان است.

پایداری بالا

داده های آزمایشگاهی نشان داده اند که تری فلورواستیل تری پپتید-۲ در دامنه وسیعی از pH (از ۳ تا ۶,۵) پایدار است. همچنین با بسیاری از امولسیون سازها^{۲۰۷} و قوام دهنده^{۲۰۸} ها سازگاری بالایی دارد. بنابراین: پروژلین پایداری بالایی دارد. البته پروژلین نسبت به واکنش میلارد^{۲۰۹} حساس است. بنابراین در هنگام آمیزش با مواد قندی احتیاط کنید.

برای دستیابی به پایداری حداکثر، افزودن پروژلین به فرمولاسیون محصول در انتهای پروسه ساخت و در دمای ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد و در دامنه پ.هاش ۴ تا ۶ توصیه می شود.

²⁰⁶ Aqueous medium

²⁰⁷ Emulsifier

²⁰⁸ Thickeners

²⁰⁹ Maillard reaction

۳-۴ نمونه فرمولاسیون

فرمولاسیون محصول استفاده شده در آزمونهای بالینی:

Phase	Commercial name	INCI name	%
A	Demineralized water	Aqua	qsp
	Carbopol® Ultrez-10	Carbomer	0.15
	Butylen glycol	Butylen Glycol	3.00
B	Neommekkin M16	Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Butylparaben (and) Propylparaben (and) Isobutylparaben	0.8
	Glycerin	Glycerin	2
C	Cutina HVG	Hydrogenated vegetable 2.00 Consistency factor glycerides	5
	Lanette 16	Cetyl Alcohol	1
	Span™ 80	Sorbitan Oleate	0.5
	LABRAFAC CC	Caprylic/Capric Triglyceride	5
	SCHERCHEMOL MM ESTER	Myristile myristate	3
	TWEEN 60	Polysorbate 60	2
	SHEA BUTTER	Butyrospermum Parkii	1
	DM FLUID 350 CS	Dimethicone	0.04
D	FRAGRANCE	Parfum	0.02
	Progeline™	Trifluoro acetyl tripeptide-2	2
	Sodium hydroxide 10%	Sodium Hydroxide	0.66

کرم اسپیریت: LA SPIRIT CREAM

INGREDIENTS	INCI NAME	%
A Deionised Water Dermofeel™ PA-12 Chlorphenesin Phenoxyethanol Granlux® AOX-GL Biophilic™ H	Water	77.10
	Sodium Phytate	0.10
	Chlorphenesin	0.30
	Phenoxyethanol	0.80
	Glycerin (and) Picea Abies Extract (and) Alcohol	1.00
	Hydrogenated Lecithin (and) C12-16 Alcohols (and) Palmitic Acid	4.00
B Dermorganics GMS-SE Mirasil DM350 Dekanex 2006 FG Phytosqualan Lecigel™	Glyceryl Stearate SE	1.00
	Dimethicone	4.00
	Hydrogenated Polydecene	3.00
	Squalane	2.00
	Sodium Acrylates Copolymer (and) Lecithin	1.50
C Adipofill™ Progeline™ Exo-H™	Water (and) Propanediol (and) Ornithine (and) Phospholipids (and) Glycolipids	2.00
	Glycerin (and) Water (and) Dextran (and) Trifluoroacetyl Tripeptide-2	2.00
	Butylene Glycol (and) Alteromonas Ferment Filtrate	1.00
D Douceur 3246	Fragrance	0.20

۴-۴ معرفی علائم

این علامت یعنی محصول عاری از نگهدارنده است [بنابراین بهتر است پس از بازشدن درب بسته بندی، تمام محتویاتش مصرف شود]



۵- نتیجه گیری نهایی

پروژلین یک پپتید ۳ اسید آمینه ای بیومیمتیک^{۲۱۰} است که به تقلید از اِلافین^{۲۱۱} (مهارکننده طبیعی الاستاز) ساخته شده است.

پروژلین علائم پیری پوست مثل چروکها، افتادگی و بی حالتی پوست را کاهش داده و در شکل دهی مجدد پوست کاملاً موثر است.

البته مبارزه پروژلین با پیری پوست فقط محدود به کاهش علائم پیری نیست. پروژلین مشکل پیری پوست را به صورت ریشه ای و در سطح سلولی برطرف می کند.

مطالعات اثربخشی نشان داد که:

- پروژلین، تولید پروژرین^{۲۱۲} (شاخص پیری پوست) را مهار می کند.
- پروژلین، الاستاز (آنزیم تجزیه کننده الاستین پوست) را مهار می کند.
- پروژلین، متالوپروتئینازها (آنزیمهای تجزیه کننده ماتریس پوست) را مهار می کند.
- پروژلین، نیروهای کششی^{۲۱۳} فیبروبلاست بر شبکه سه بعدی کلاژن پوست را تقویت می کند.
- پروژلین، تولید سیندکانها^{۲۱۴} را افزایش می دهد.

بنابراین

پروژلین برای به کارگیری در محصولات آرایشی ضدپیری بسیار سودمند است.

²¹⁰ Biomimetic

²¹¹ Elafin

²¹² Progerin

²¹³ Contractile Forces

²¹⁴ syndecan