Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wydział Farmaceutyczny

Katedra Kosmetologii

Zakład Chemii i Surowców Kosmetycznych

Anna Jaros-Sajda

Działanie preparatów zawierających witaminę C na skórę naczyniową aplikowanych za pomocą różnych technik

The effects of vitamin C formulations on vascular skin applied using various techniques

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

Promotor

Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz

Promotor pomocniczy

Dr n. med. Anna Erkiert-Polguj

ŁÓDŹ 2023

Serdecznie dziękuję

Pani ***prof. dr hab. n. farm. Elżbiecie Budzisz*** *za opiekę merytoryczną i nieocenioną pomoc w trakcie realizacji badań oraz pisania niniejszej rozprawy doktorskiej.*

Pani ***dr n. med. Annie Erkiert -Polguj*** *za opiekę naukową, okazaną życzliwość, cierpliwość, wnikliwe uwagi oraz wszelką pomoc i poświęcony czas w trakcie realizacji badań i redagowania pracy.*

Dziękuję mężowi Michałowi za miłość, wsparcie, cierpliwość, wyrozumiałość i niegasnącą we mnie wiarę.

Dziękuję Mamie za motywację, duchowe wsparcie, kojące ciepło domowego ogniska.

SPIS TREŚCI

I. WSTĘP 5
II. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA 6
2.1. Skóra naczyniowa 6
2.1.1. Etiologia powstawania zmian rumieniowych 6
2.1.2. Teleangiektazje 7
2.1.3. Rumień 8
2.1.4. Redukcja zmian rumieniowych 9
2.2. Skóra wrażliwa 11
2.2.1. Definicja skóry wrażliwej i sposoby jej kwalifikacji 11
2.2.2. Patogeneza i leczenie skóry wrażliwej 13
2.3. Witamina C 15
2.3.1. Biochemiczne właściwości witaminy C 15
2.3.2. Zastosowanie witaminy C w kosmetologii 18
2.3.3. Formy witaminy C stosowane w kosmetykach 19
2.4. Kwas ferulowy jako pochodna kwasu cynamonowego 21
2.4.1. Właściwości kwasu ferulowego 21
2.4.2. Zastosowanie kwasu ferulowego w kosmetologii 22
2.5. Floretyna jako pochodna chalkonu 23
2.5.1. Właściwości floretyny 23
2.5.2. Zastosowanie floretyny w kosmetologii 24
2.6. Mezoterapia mikroigłowa 24
2.6.1. Charakterystyka zabiegu mezoterapii mikroigłowej 24
2.6.2. Zastosowanie mezoterapii mikroigłowej w kosmetologii 26
2.7. Sonoforeza 27
2.7.1. Charakterystyka zabiegu sonoforezy oraz jego zastosowanie w kosmetologii 27
III. CELE I ZAŁOŻENIA PRACY 29
IV. CZĘŚĆ BADAWCZA 30
4.1. Materiały i metodyka 30
4.1.1. Charakterystyka grupy badanej 30
4.1.2. Procedury zabiegowe 31
4.1.3. Ocena aparaturowa 32
4.1.3.1. *Ocena zabarwienia skóry i nasilenia rumienia - sonda meksametryczna* 33

4.1.3.2. *Ocena nawilżenia skóry - sonda korneometryczna* 34
4.1.3.3. *Ocena transepidermalnej utraty wody (TEWL)* 34
4.1.3.4. *Ocena elastyczności skóry - sonda kutometryczna* 34
4.1.4. Dokumentacja fotograficzna 35
4.1.5. Ocena subiektywna za pomocą ankiet 35
4.1.6. Statystyka 35
V. WYNIKI 37
5.1. Rumień 37
5.2. Pigmentacja 39
5.3. Nawilżenie 41
5.4. Transepidermalna utrata wody 43
5.4. Elastyczność 44
5.5. Wyniki ankiet 48
5.5. Fotograficzne udokumentowanie badań 51
5.6. Skutki uboczne 58
VI. DYSKUSJA 59
6.1. Redukcja rumienia i hiperpigmentacji 62
6.2. Nawilżenie skóry i TEWL 65
6.3. Parametry mechaniczne skóry (R1, R2 i R5) 66
6.4. Działanie przeciw fotostarzeniowe 68
6.5. Skóra wrażliwa 71
6.6. Efekty uboczne 74
VII. WNIOSKI 75
VIII. STRESZCZENIE 76
IX. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM 79
X. PIŚMIENNICTWO 82
XI. SPIS RYCIN, TABEL, WYKRESÓW, ZDJĘĆ I SCHEMATÓW 97
XII. ZAŁĄCZNIKI 99
Załącznik 1. *Zgoda Komisji Bioetyki* 99
Załącznik 2. *Porównanie statystyczne skuteczności mezoterapii igłowej (prawa strona) oraz sonoforezy (lewa strona)* 102
Załącznik 3. *Formularz świadomej zgody* 106
Załącznik 4. *Ankieta wstępna* 107
Załącznik 5. *Ankieta końcowa* 109
Załącznik 6. *Publikacja grupa I* 112
Załącznik 7. *Bibliometria* 124

WYKAZ SKRÓTÓW

ATIP	tetraizopalmitynianu askorbylu (ang. *ascorbyl tetraisopalmitate)*
AZS	atopowe zapalenie skóry (ang. *atopic skin dermatitis*)
CGRP	peptyd pochodny genowi kalcytoniny (ang. *calcitonin gene-related peptide*)
CTGF	czynnik wzrostu tkanki łącznej (ang. *connective tissue growth factor)*
DOPA	dihydroksyfenyloalanina (ang. *dihydroxyphenylalanine*)
EDRF	śródbłonkowy czynnik rozluźniający mięśniówkę naczyń (ang. *endothelium-derived relaxing factor*)
EGF	epidermalny czynnik wzrostu (ang. *epidermal growth factor)*
HIF-1	czynnik indukowany hipoksją 1 (ang. *hypoxia-inducible factor 1*)
IL-1α, IL-6	interleukiny -1 α oraz -6 (ang. *interleukin -1α and -6*)
IPL	intensywne światło pulsacyjne (ang. i*ntense pulsed light*)
MAP	fosforan askorbylu magnezu (ang. *magnesium ascorbyl phopsphate*)
MMP	metaloproteinaz macierzy (ang. *matrix metalloproteinase*)
NF-κB	jądrowy czynnik transkrypcyjny (ang. *nuclear factor κB*)
PDGF	płytkowy czynnik wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor*)
ROS	reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species)*
SIS	układ immunologiczny skóry (ang. *skin immune system*)
TEWL	transepidermalna utrata wody (ang. *tranepidermal water loss*)
TGF-2	czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *transforming growth factor*)
TGF-α	transformujący czynnik wzrostu alfa (ang. *transforming growth factor alpha)*
TGF-β	transformujący czynnik wzrostu beta (ang. *transforming growth factor beta)*
TLR2	receptor toll-podobny 2 (ang. *toll-like receptor 2*)
TNF-α	czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor α*)
TRP	fazowy potencjał receptorowy (ang. *transient receptor potential*)
UV	promieniowanie ultrafioletowe (ang. *ultraviolet radiation*)
VEGF	czynnik wzrostu śródbłonka naczyń (ang. v*ascular endothelial growth factor*)
VIP	wazoaktywny peptyd jelitowy (ang. *vasoactive intenstinal peptide*)

I. WSTĘP

Obecnie częsty problem stanowi skóra naczyniowa oraz związany z nią rumień napadowy lub utrwalony. Do jego powstania mogą przyczynić się aktywny tryb życia, promieniowanie UV, zła dieta, czy zawarte w powietrzu zanieczyszczenia. Zmiany rumieniowe zaostrzane są przez codzienne życiowe sytuacje takie jak stres, wysiłek fizyczny, ostre potrawy czy alkohol co zwiększa dyskomfort i utrudnia codzienne funkcjonowanie. Dodatkowo skóra naczyniowa często występuje wraz z skórą wrażliwą co utrudnia działania terapeutyczne [1]. Fakt ten skłania do szukania skutecznych i bezpiecznych terapii redukujących rumień, a jednocześnie przynoszących skórze inne korzyści przy maksymalnym wyeliminowaniu substancji, które mogą powodować nadwrażliwość.

Kwas L-askorbinowy jest dobrze przebadaną substancją aktywną o udowodnionym wielokierunkowym korzystnym działaniu na skórę [2]. Aczkolwiek cały czas poszukiwane są połączenia witaminy C z innymi substancjami aktywnymi, które zwiększyłyby efektywność witaminy C oraz poszerzyły jej spektrum działania. Porównanie preparatów na bazie kwasu L-askorbinowego połączonego z kwasem ferulowym lub z kwasem ferulowym i floretyną oraz czystej witaminy C umożliwi wskazanie skutecznego preparatu redukującego rumień oraz pokaże które rozwiązanie będzie skuteczniejsze w terapiach przeciwstarzeniowych (ang. *antiaging*) w przypadku skór rumieniowych oraz wrażliwych.

W przypadku oceny skuteczności terapii zabiegowych nie tylko sam skład preparatu ma znaczenie. Kluczową kwestie stanowi również sposób podania substancji aktywnych do skóry. Dlatego też w niniejszej pracy zdecydowano się na porównanie dwóch technik: sonoforezy oraz mezoterapii mikroigłowej (0,2mm). Obie techniki w znaczący sposób zwiększają przenikanie substancji aktywnych [3,4]. W przypadki skór rumieniowych zwraca się szczególną uwagę aby techniki nie powodowały podrażnień oraz aby nie zaostrzały zmian naczyniowych.

Znalezienie preparatu oraz techniki podania substancji czynnych, które w satysfakcjonujący sposób zredukują rumień jak również wpłyną na ogólną poprawę stanu skóry działając przeciwstarzeniowo stanowi ważny kierunek w dziedzinie nauki jaką jest kosmetologia.

II. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

2.1. Skóra naczyniowa

Skóra naczyniowa charakteryzuje się występowaniem teleangiektazji oraz zmian rumieniowych. Według definicji, skóra naczyniowa najczęściej obejmuje obszar twarzy, szyi oraz dekoltu tzw. ang. *blush area,* ang. *flushing region*. Zdecydowanie rzadziej występuje na innych obszarach ciała. Dodatkowo zmianom często towarzyszy uczucie rozgrzania, pieczenia, kłucia oraz ściągania skóry [5,6].

2.1.1. Etiologia powstawania zmian rumieniowych

Etiologia powstawania zmian naczyniowych skóry ma bezpośredni związek z układem naczyniowym oraz nerwowym skóry [6]. Charakterystyczne dla systemu naczyń krwionośnych skóry głowy i szyi jest występowanie dużej ilości anastomoz, czyli prostych połączeń tętniczo żylnych, co stanowi istotną kwestię w procesie termoregulacji [7,8]. Nie bez znaczenia jest również fakt, że skóra twarzy ma bardzo dużą liczbę naczyń krwionośnych w przeliczeniu na stosunkowo niewielką powierzchnię, co przyczynia się do kilkukrotnego zwiększenia w tym obszarze łożyska naczyniowego w stosunku do innych części ciała [6,9,10].

Kolejną cechą skóry twarzy, która predysponuje ją do częstszego występowania zmian rumieniowych jest lokalizacja splotu naczyniowego podbrodawkowego tuż pod naskórkiem, co bezpośrednio związane jest ze ścieńczeniem górnych warstw skóry właściwej [11].

Twarz jest obszarem bardzo dobrze unaczynionym, a jednocześnie unerwionym przez pozazwojowe włókna układu współczulnego, co sprawia, że skóra w tym obszarze jest bardzo reaktywna na różnego rodzaju bodźce [7].

Jak już wcześniej zostało zaznaczone skóra pełni kluczową rolę w procesie termoregulacji. Podstawą tego procesu jest otwarcie zamkniętych anastomoz oraz neurogenne rozluźnienie mięśni budujących ścianę naczyń krwionośnych i zwiększenie ich światła. Procesy te mogą być zrealizowane w dwóch mechanizmach neurogennych, gdzie pierwszy polega na zmniejszaniu aktywności zwężających naczynia włókien współczulnych oraz drugi, który opiera się na zwiększonej aktywności włókien przywspółczulnych, które rozszerzają naczynia [12,13].

Bardzo ważny aspekt stanowi również fakt, iż we wzgórzu i w korze mózgu obszar odpowiedzialny za odbieranie bodźców od nerwów twarzowych jest dużo większy w porównaniu z innymi obszarami ciała, co potwierdza jak duże znaczenie mają wrażenia czuciowe i bólowe pochodzące z twarzy dla całego układu [6].

Kluczową kwestią w omawianiu mikrokrążenia jest również fakt, że podlega ono regulacji poprzez działanie mediatorów zapalnych, które mogą działać bezpośrednio na mięśnie gładkie ściany naczyń albo poprzez uwalnianie z komórek śródbłonka EDRF (ang. *endothelium-derived relaxing factor*). Substancje, które mogą rozszerzyć naczynia skórne na podstawie wyżej wymienionych procesów to: histamina, wazopresyna, serotonina, kwas arachidynowy, substancja P, naczyniowo aktywny polipeptyd jelitowy, trombina i prostacyklina [14].

Inne ważne aspekty w patogenezie zmian naczyniowych stanowi stan ścian naczyń krwionośnych oraz ich otoczenia. Konsekwencją wynikającą z częstego rozszerzania naczyń jest utrwalenie rumienia oraz pojawienie się teleangiektazji [15,16].

2.1.2. Teleangiektazje

Teleangiektazje to zmiany naczyniowe powszechnie określane jako popękane naczynka lub tzw. „pajączki". Fizjologicznie są to trwale rozszerzone naczynia włosowate splotu podbrodawkowego. Przez to, że prześwitują przez naskórek widoczne są na skórze w postaci czerwonych lub sino-niebieskich nitek. Charakterystyczną cechą tych zmian jest fakt, że są niewyczuwalne w badaniu palpacyjnym, a od niezmienionej chorobowo części skóry różni je tylko zabarwienie. Teleangiektazje umiejscowione są głównie w środkowej części twarzy, często zajmując policzki i skrzydełka nosa [17].

Badania pokazują, że tego typu zmiany dotyczą zarówno kobiet jak i mężczyzn. Etiologia powstawania teleangiektazji jest bezpośrednio związana z występowaniem napadowych lub utrwalonych rumieni.

Teleangiektazje dzielone są na dwie grupy ze względu na przyczynę powstania. W każdym przypadku teleangiektazje przyjmują taki sam obraz kliniczny.

1) teleangiektazje pierwotne (samoistne) - pojawiają się samoistnie. Często można zaobserwować je u noworodków, czego przyczyną są choroby wrodzone np. choroba Rendu-Oslera. Zdarza się jednak, że takie zmiany występują również u osób dorosłych lub dzieci.

2) teleangiektazje wtórne (nabyte) - pojawiają się w skutek występowania różnego rodzaju czynników predysponujących, takich jak:

- choroby skóry - trądzik różowaty, łojotokowe zapalenie skóry, twardzina, toczeń rumieniowaty, chorobie Bournevila-Pringla oraz przy skórze barwnikowej i pergaminowej.
- choroby ogólnoustrojowe - nadciśnienie tętnicze, choroby wątroby, zaburzeniami gospodarki hormonalnej oraz niewydolność krążenia.
- ekspozycja na czynniki zewnętrzne - długotrwała ekspozycja na promienie UV, solarium, duże wahania temperatur, wiatr, duża wilgotność powietrza.
- jatrogenne (po leczeniu) - dotyczą przewlekłego aplikowania preparatów na bazie sterydów na twarz. Na powstanie teleangiektazji w taki sposób najbardziej narażone są dzieci oraz osoby o I i II fototypie jak również pacjenci z trądzikiem różowatym lub poddawani naświetlaniu RTG [18].

Teleangiektazje powstają na skutek zaburzenia prawidłowego funkcjonowania mechanizmu krążenia skórnego. W niektórych przypadkach ściany naczyń krwionośnych są zbyt mało elastyczne. Dlatego też w skutek częstego bodźcowania raz rozszerzone nie potrafią się skurczyć przez co pozostają na skórze widoczne jako teleangiektazje.

Zmiany tego typu mają najczęściej zabarwienie wiśniowe, sinawo-granatowe, lub niebieskawe.

Inny podział teleangiektazji jest ze względu na wygląd. Podział ten przedstawia się następująco:

a) drzewkowate (połączone między sobą),
b) pajączkowate, promieniste (rozchodzące się promieniście na boki od centralnego najszerszego naczynia),
c) liniowe – drobne, pojedyncze linie (nie łączące się z sobą) [18-20].

2.1.3. Rumień

Rumień najczęściej jest definiowany jako widoczne zaczerwienienie skóry [21]. Fizjologicznie jest odpowiedzią organizmu na hipertermię i wynika ze zwiększonego przepływu krwi przez skórę spowodowanego przejściowym rozszerzeniem naczyń [5,8]. Silne zaczerwienie jest zazwyczaj najbardziej widoczne w klasycznym „rumieńcu", który obejmuje twarz, szyję, górną część klatki piersiowej i kończyny górne.

Rumień może mieć charakter epizodyczny lub stały. W przypadku tego pierwszego jego występowanie jest zazwyczaj spowodowane uwalnianiem endogennych mediatorów wazoaktywnych lub przez leki [8]. Powtarzające się przez dłuższy czas epizody najczęściej prowadzą do powstania trwałego rumienia.

Do powstawania patologii skórnych w postaci rumienia przyczynia się wiele czynników. U większości pacjentów nie można wskazać jednego czynnika powodującego powstawanie zmian. To jak dany bodziec działa na skórę jest kwestią osobniczą i u każdego może spowodować inną reakcję skórną. Mimo to, została stworzona grupa czynników, które najbardziej determinują powstawanie zmian naczyniowych na skórze. Zaliczamy do nich: reakcje termoregulacyjne na ciepło, stres i emocje, promieniowanie słoneczne (długotrwałe opalanie), gorące kąpiele, korzystanie z sauny, procesy metaboliczne podwyższające temperaturę całego ciała (gorączka, intensywne ćwiczenia fizyczne), menopauza, trądzik różowaty, spożywanie napojów alkoholowych, spożywanie ostrych potraw, leki o działaniu naczyniorozszerzającym (nitrogloceryna, sildenafil, blokery kanału wapniowego, hydralazyna, glikokortykosteroidy, antagoniści receptorów adrenergicznych typu β, morfina itd.), ekspozycja na środowiskowe czynniki drażniące. Zdecydowanie rzadziej zmiany rumieniowe spowodowane są przez: nowotwory neuroendokrynne (guzy neuroendokrynne trzustki, rak rdzeniasty tarczycy, guz chromochłonny nadnerczy), mastocysta, choroby neurologiczne (migrena, choroba Parkinsona) [22,23].

2.1.4. Redukcja zmian rumieniowych

Intensywny i często pojawiający się rumień może być przyczyną kompleksów, mimo, iż najczęściej jest wynikiem nadmiernych fizjologicznych reakcji organizmu na różnego rodzaju czynniki. W związku z tym pacjenci często decydują się na próbę redukcji tego typu zmian.

Terapia zmian utrwalonych opiera się na użyciu laserów. Do urządzeń, które odznaczają się bardzo wysoką skutecznością w leczeniu tego typu niedoskonałości skórnych zaliczamy:

1) laser neodymowo-jagowy (Nd:YAG)- KTP 532nm; (Nd: YAG)-1064 nm,
2) laser argonowy,
3) laser barwnikowy.

Najważniejszą zaletą terapii opartych na działaniu promieniowania laserowego jest możliwość dostarczenia dużych dawek energii w obrębie małych powierzchni. Proces usuwania zmian jest bezpośrednio związany z fototermolizą. Zjawisko to oparte jest na absorbowaniu dawki promieniowania przez hemoglobinę znajdującą się w naczyniu. Efektem tego jest zmiana energii świetlnej w energie cieplną, co powoduje odparowywanie wody, która znajduje się w tkance. Konsekwencją tej reakcji jest uszkodzenie naczynia, które z czasem zostaje wchłonięte przez organizm [24-26].

W niwelowaniu zmian naczyniowych bardzo ważną rolę odgrywają też metody nielaserowe, do których zaliczamy: IPL (ang. *intense pulsed light*) lub elektrokoagulację. Jednakże IPL cieszy się większą popularnością wśród wyżej wymienionych metod. Schemat działania urządzenia IPL jest taki sam jak w przypadku zabiegów laserowych, mimo tego, że IPL nie jest laserem. IPL w przeciwieństwie do laserów emituje światło polichromatyczne. Kluczowe dla skuteczności i bezpieczeństwa przeprowadzanych terapii jest prawidłowe dobranie parametrów urządzenia [26].

Skuteczną metodą zamknięcia rozszerzonych naczyń krwionośnych – teleangiektazji, jak i eliminowania innych defektów skórnych, jest również zabieg elektrokoagulacji, która polega na stosowaniu prądu zmiennego o wysokim natężeniu oraz niskim napięciu. Zamierzony efekt uszkodzenia zmienionych chorobowo tkanek uzyskuje się dzięki wytwarzanemu ciepłu, jakie generuje opór tkanek na dostarczany prąd. Powstała w ten sposób wysoka temperatura prowadzi do denaturacji białek, co z kolei umożliwia koagulację. Dodatkowo, dochodzi również do wrzenia płynu śródkomórkowego, przez co błony komórkowe ulegają przerwaniu [27].

Nieodzownym elementem terapii skór rumieniowych jest odpowiednia profilaktyka oraz pielęgnacja domowa, która obejmuje preparaty do stosowania miejscowego oraz odpowiednią suplementację. Najczęściej stosowana jest witamina C oraz substancje pochodzenia roślinnego (rutozyd, trokserutyna, escyna). Substancje te mają za zadanie wzmocnić ściany naczyń krwionośnych, zwiększyć ich elastyczność oraz zmniejszyć ich przepuszczalność [28-30].

W terapii zmian rumieniowych bardzo często stasuje się również zabiegi na bazie kwasu azelainowego, gdzie wykorzystuje się jego właściwość przeciwzapalne, przeciwbakteryjne oraz przeciwzaskórnikowe [31].

2.2. Skóra wrażliwa

2.2.1. Definicja skóry wrażliwej i sposoby jej kwalifikacji

W ostatnich latach skóra wrażliwa stała się ważnym tematem w dermatologii i kosmetologii. Po przeprowadzeniu dużych badań epidemiologicznych dotyczących częstotliwości występowania skóry wrażliwej, okazało się, że aż 50-61% kobiet oraz 30-40% mężczyzn ocenia swoją skórę jako wrażliwą [32-34]. Wykazano również, że problem skóry wrażliwej częściej dotyka mieszkańców krajów bardziej uprzemysłowionych i ma znaczący wpływ na komfort ich życia [35].

Skóra wrażliwa charakteryzowana jest jako szereg nieprzyjemnych odczuć o różnym natężeniu, w odpowiedzi na bodźce, które normalnie nie powinny wywołać takich reakcji [36]. Najczęściej występują objawy w postaci świądu, kłucia, pieczenia, mrowienia czy bólu. Rumień nie jest cechą obligatoryjną aczkolwiek występuje bardzo często [34]. Bodźce które wywołują określoną reakcję skóry mogą mieć różny charakter: fizyczne (wysoka temperatura, niska temperatura, wiatr, promieniowanie UV), chemiczne (kosmetyki, woda, detergenty), psychologiczne (stres) oraz hormonalne (menstruacja). Ważną cechą jest przemijający charakter zmian [37].

Skórę wrażliwa określa się również mianem skóry reaktywnej, nadmiernie reaktywnej lub skóry drażliwej. Niektórzy badacze twierdzą, że termin „skóra reaktywna" jest lepszy od określenia „skóra wrażliwa", gdyż ten ostatni może być mylony z skórą uwrażliwioną, która jest wynikiem reakcji alergicznych. Obecnie mechanizmy immunologiczne nie są wiązane ze skórą wrażliwą [37,38].

Dostępnych jest kilka klasyfikacji skóry wrażliwej. Yokota i wsp. [39] zdefiniowali na podstawie parametrów fizjologicznych trzy różne typy skóry wrażliwej:

- ✓ typ 1: charakteryzuje uszkodzona bariera hydrolipidowa, nadmierna transepidermalna utrata wody oraz zaburzenia procesu łuszczenia.
- ✓ typ 2: charakteryzują zapalenia z prawidłowo funkcjonującą barierą hydrolipidową oraz zmianami zapalnymi.
- ✓ typ 3: charakteryzuje nadmierna reakcja neuronów przy prawidłowej barierze lipidowej oraz bez oznak stanu zapalnego.

Kolejny podział zaproponowany przez Mills i Berger [40] opiera się na kwalifikacji dermatologicznej i obejmuje cztery grupy:

- ✓ grupa 1: osoby z przewlekłymi chorobami dermatologicznymi o umiarkowanym lub nasilonym występowaniu.
- ✓ grupa 2: osoby z przewlekłymi chorobami dermatologicznymi o bezobjawowym lub bardzo łagodnym przebiegu.
- ✓ grupa 3: osoby, które w przeszłości miały silne poparzenie słoneczne lub alergie kontaktową.
- ✓ grupa 4: osoby, których nie można zakwalifikować do żadnej z powyższych grup, ale zgłaszają nieprawidłowe reakcje skóry na bodźce.

Natomiast Willis i de Lacharriere [41] podzielili skórę w zależności od czynników wywołujących na 3 podgrupy:

- ✓ grupa 1: osoby z bardzo dużą reaktywnością skóry na wszystkie rodzaje czynników.
- ✓ grupa 2: osoby, które reagują tylko na działanie czynników miejscowych.
- ✓ grupa 3: osoby wrażliwe na czynniki środowiskowe.

Najpopularniejszy podział skóry wrażliwej jest w zależności od nasilenia objawów [42]. I tu dzielimy skórę na:

- ✓ skórę bardzo wrażliwą,
- ✓ skórę wrażliwą,
- ✓ skórę lekko wrażliwą,
- ✓ skórę niewrażliwą.

Ze względu na ogromną zmienność objawów skóry wrażliwej, nie ustalono jednego uniwersalnego testu potwierdzającego tą przypadłość. Obecnie badacze posługują się kilkoma metodami. Jedną z nich jest test ukłuć Froscha i Kligmana [43] polegający na aplikacji kwasu mlekowego na fałd nosowo-wargowy i ocenie intensywności subiektywnych objawów [43]. Inną stosowaną praktyką jest aplikacja kapsaicyny, która została zakwalifikowana jako test neurosensowności skóry oraz jednocześnie narzędzie do diagnostyki skóry wrażliwej [44]. Obecnie stosuje się również testy czucia termicznego, testy żądła, okluzyjną aplikację laurylosiarczanu sodu, ocenę TEWL, korneometrię, test mycia i przesadnego zanurzenia, kolorymetrię oraz ilościowe badanie czucia. Faktem jest, że tylko niewielka ilość osób zareaguje na każdy bodziec.

Pozytywna reakcja na jeden test nie pozwala jednoznacznie zakwalifikować skóry jako skórę wrażliwą [37].

W związku z tym, że skóra wrażliwa jest definiowana przez nieprawidłowe odczucia na różne czynniki to najlepszą metodą kwalifikacji będzie zastosowanie skal oraz ankiet. Niestety w chwili obecnej brak jest konkretnych zwalidowanych kwestionariuszy [37].

Skóra wrażliwa częściej występuje u kobiet niż mężczyzn, a częstotliwość ta wzrasta wraz z wiekiem [45]. Nie wykazano jednoznacznie związku z występowaniem skóry wrażliwej a konkretnym pochodzeniem etnicznym. Zauważano, że czynniki kulturowe i związany z nimi tryb życia może być bardzo ważnym czynnikiem wyzwalającym [46].

Definicja skóry wrażliwej nie dotyczy tylko twarzy, choć tam stanowi ona najczęstszy problem. Zjawisko to dotyka również innych części ciała w tym skóry głowy. Wówczas objawy to świąd i kłucie. Wrażliwość może również dotykać skóry i śluzówki okolic intymnych [47,48].

W niektórych przypadkach wyzwanie diagnostyczne stanowi różnicowanie skóry wrażliwej z trądzikiem różowatym. Przy braku rumienia, a występowaniu nadmiernych reakcji na bodźce rozpoznanie jest łatwe i jednoznacznie wskazuje na skórę wrażliwą. Jednakże rumień często jest jednym z objawów skóry wrażliwej. W takim przypadku diagnoza oparta musi zostać na pozostałych czynnikach. [37].

2.2.2. Patogeneza i leczenie skóry wrażliwej

Patogeneza skóry wrażliwej nie jest do końca poznana i jasna. Zaobserwowano jednak kilka mechanizmów, które prawdopodobnie biorą udział w wzmożonej reakcji skóry wrażliwej na bodźce.

Stosunkowo często u pacjentów ze skórą wrażliwą obserwuje się uszkodzenie bariery lipidowej, a co za tym idzie zwiększoną transepidermalną utratę wody. Sytuacja ta może być czynnikiem sprzyjającym do kontaktu skóry z czynnikami wyzwalającymi. Należy jednak pamiętać, że taka sytuacja nie jest obligatoryjna w przypadku skóry wrażliwej i należy dokładnie rozróżniać skórę wrażliwą od skóry suchej. Niemniej jednak występowanie skóry suchej i zmiany w funkcjonowaniu płaszcza hydrolipidowego mogą sprzyjać występowaniu patologicznych reakcji na czynniki zewnętrze. Zależność ta działa również w drugą stronę - skóry wrażliwe często mają tendencję do suchości. Dobrą

praktyką w takiej sytuacji jest regularne stosowanie środków nawilżających skórę [37,49,50].

W patomechanizm skóry wrażliwej zaangażowany jest skórny układ nerwowy o czym świadczą nieprawidłowe odczucia i rozszerzenie naczyń. Szczególną rolę odgrywają tutaj neuroprzekaźniki takie jak substancja P, peptyd związany z genem kalcytoniny CGRP (ang. *calcitonin gene-related peptide*) oraz wazoaktywny peptyd jelitowy VIP (ang. *vasoactive intenstinal peptide*), które mogą stanowić czynnik wywołujący neurogenne zapalenie z rozszerzeniem naczyń oraz degranulację komórek tucznych. Przy czym zapalenie neurogenne w tym przypadku definiowane jest jako uwalnianie neuropeptydów przez zakończenia nerwowe, czego konsekwencją jest stan zapalny [38,51]

Fakt, że czynniki wyzwalające wrażliwość skóry są heterogenne powoduje, że dostrzega się rolę kanałów TRP (ang. *transient receptor potential*) w patogenezie skóry wrażliwej. Kanały TRP są jedynymi poznanymi cząsteczkami, które mogą być aktywowane zarówno przez czynniki fizyczne jak i chemiczne, przez co w wyraźny sposób łączą się z mechanizmem zachodzącym w skórze wrażliwej, gdzie właśnie cechą charakterystyczną jest reakcja na czynniki pochodzące z różnych grup. Kanały TRP w skórze ulegają ekspresji na zakończeniach nerwowych komórek Merkla oraz keratynocytach. Dodatkowo udowodniono, że poszczególne kanały reagują na konkretne czynniki. I tak TRPV1 jest aktywowany przez kapsaicynę, estry forbolu, ciepło oraz jony wodorowe. TRPV3 reaguje na ciepło oraz kamforę, natomiast TRPV4 na ciepło, naprężenia mechaniczne, stres hipo-osmotyczny i pochodne estrów forbolu. Dodatkowo TRPA1 zostaje aktywowany przez zimno, wasabi, musztardę, chrzan oraz bradykininę. Prawdopodobnie kanały TRP aktywowane są również przez inne substancje zawarte w kosmetykach. Mechanizm ten polega na aktywacji kanałów, następuje napływ Ca^{2+} do komórek, a w konsekwencji ich depolaryzacja [37,38,41,52,53].

Podsumowując rolę kanałów TRP badacze doszli do wniosku, że w przypadku skóry wrażliwej naskórkowe kanały TRP są zdecydowanie mocniej stymulowane. Konsekwencją tego jest uwalnianie neurotrofin oraz neurotransmiterów, które z dużym prawdopodobieństwem indukują neurogenny stan zapalny w skórze [37].

Pewne badania z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego pozwalają stwierdzić, że w patogenezie skóry wrażliwej udział bierze również ośrodkowy układ nerwowy, co od razu stanowi również wyjaśnienie dlaczego jednym z czynników wyzwalających może być stres. Badanie polegało na aplikacji kwasu mlekowego na skóry

kobiet ze skórą wrażliwą oraz z skórą zdrową nie wykazującą wrażliwości i ocenie reakcji neuronalnej za pomocą rezonansu magnetycznego. Podczas badania odnotowano, że w przypadku skóry wrażliwej oprócz wzrostu aktywności w pierwotnej korze czuciowo-ruchowej następowało rozprzestrzenienie się na ipsiletarną pierwotną korę czuciowo – ruchową oraz obustronną okołoskroniową wtórną okolicę somatosensoryczną. Dodatkowo u osób ze skórą wrażliwą zanotowano również wzrost aktywności sensoralnej [54].

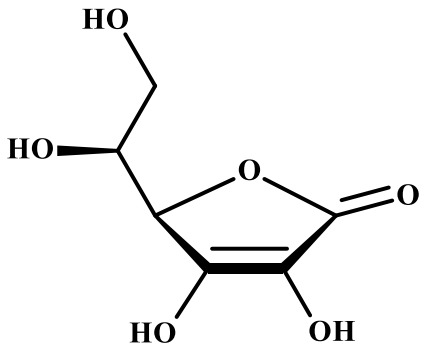
W przypadku patofizjologii skóry wrażliwej nie wykazano nieprawidłowości histologicznych. Zazwyczaj odnotowuje się brak nacieku zapalnego, który świadczy o braku roli odporności wrodzonej lub swoistej w tym mechanizmie. Często jednak wrażliwość skóry zgłaszana jest przez pacjentów z atopowym zapaleniem skóry lub pozostałymi chorobami alergicznymi. Niemniej jednak badania pokazują, że większość osób z skórą wrażliwą nie posiada atopowego zapalenia skóry – AZS [54].

Podsumowując patomechanizm skóry wrażliwej jest bardzo złożony i nadal pozostaje nie do końca wyjaśniony. Przez to utrudnione jest również skuteczne leczenie. Na ten moment dermatolodzy terapie skór wrażliwych opierają o stosowanie dobrze tolerowanych, delikatnych kosmetyków o łagodzącym działaniu. Ważnym aspektem jest również stosowanie filtrów słonecznych oraz unikanie czynników wyzwalających.

2.3. Witamina C

2.3.1. Biochemiczne właściwości witaminy C

Kwas L-askorbinowy (2,3-didehydro-L-treo-heksono-1,4-lakton) ang. *ascobric acid*, o wzorze sumarycznym $C_6H_8O_6$ (Rycina 1) w standardowych warunkach fizykochemicznych przyjmuje postać krystalicznych bezwonnych ciał stałych [55-57]. Jest to heksoza (cukier prosty), co potwierdza posiadanie przez witaminę C charakterystycznego dla tej grupy związków chemicznych pierścienia furanozowego.



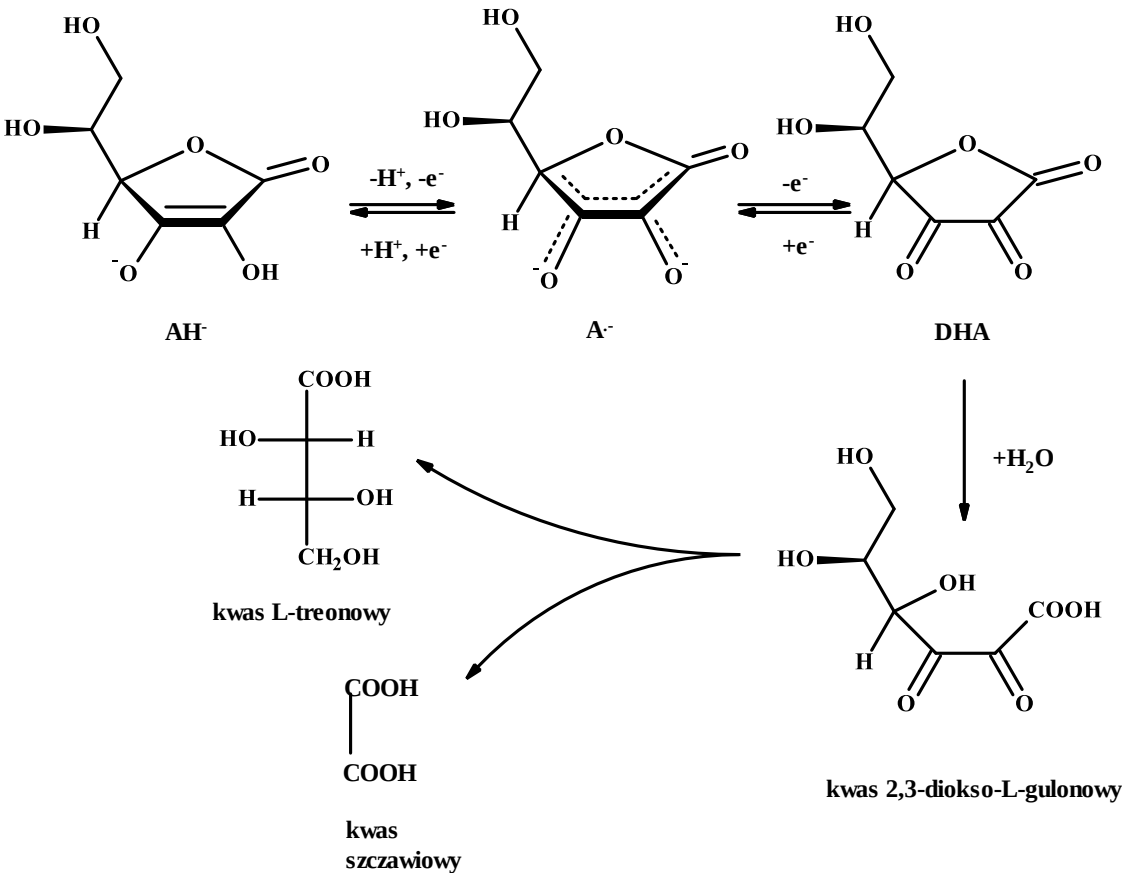
Rycina 1. *Wzór strukturalny kwasu L-askorbinowego*

Witamina C swój kwasowy charakter zawdzięcza dwóm zdolnym do dysocjacji atomom wodoru w grupie endiolowej (Schemat 1) [56]. Proces dysocjacji przebiega dwuetapowo, co przedstawiają poniższe reakcje:

$$H_2Asc \longrightarrow H^+ + HAsc^- \quad pK= 4,17$$
$$HAsc^- \longrightarrow H^+ + Asc^{2-} \quad pK= 11,57$$

Schemat 1. *Dysocjacja elektrolityczna witaminy C*

Bardzo ważną charakterystyczną cechą witaminy C jest jej bardzo dobra rozpuszczalność w wodzie. W ludzkim organizmie (Schemat 2) występuje w postaci anionu askorbinowego (AH^-) przyjmując formę prawie całkowicie zdysocjowanej. Czynnik utleniający prowadzi do redukcji askorbianu, w wyniku czego powstaje rodnik askorbylowy o małej aktywności (na schemacie A^-). W dalszych etapach odłączony zostaje kolejny elektron, w skutek czego powstaje kwas dehydroksyaskorbinowy (na schemacie DHA). Kwas ten charakteryzuje się dużą nietrwałością i stosunkowo szybko rozpada się między innymi do kwasu 2,3-diokso-l-gulonowego. Produkt powstały w wyniku tej reakcji ulega dalszemu utlenianiu, w wyniku którego powstaje kwas szczawiowy i kwas L-treonowy [58]. Przedstawione wyżej przemiany opisuje schemat 2.



Schemat 2. *Schemat przemian anionu askorbinowego*

Witamina C występuje w postaci kwasu L-askorbinowego, która stanowi formę zredukowaną, oraz w postaci kwasu dehydroksyaskorbinowego (na schemacie DHA), który jest formą utlenioną, co świadczy o łatwości przeprowadzania przez kwas L-askorbinowy reakcji redoks. Reakcje te są całkowicie odwracalne. Należy podkreślić również, że powstałe w ten sposób związki zachowują swoje pożądane właściwości, aczkolwiek są niestabilne i łatwo ulegają dalszym, nieodwracalnym już reakcjom (patrz Schemat 2).

Z uwagi na brak w ludzkim organizmie enzymu oksydazy L-glunolaktonowej, witamina C nie może być w nim syntezowana. W związku z tym zaliczana jest do substancji egzogennych, a całe jej zapotrzebowanie musi być dostarczane do organizmu z zewnątrz. Podoba sytuacja jest u małp, świnek morskich, nietoperzy oraz niektórych gatunków ryb i ptaków. Pozostałe gatunki potrafią same w wątrobie i nerkach syntezować witaminę C.

Zupełnie inaczej wygląda sytuacja produkcji witaminy C w świecie roślin, gdzie w każdej komórce znajdują się enzymy niezbędne do przeprowadzenia syntezy witaminy C, co z kolei potwierdza, że owoce i warzywa stanowią najlepsze źródło witaminy C [57].

2.3.2. Zastosowanie witaminy C w kosmetologii

Witamina C jest substancją bardzo często wykorzystywaną w preparatach kosmetycznych, co wynika z faktu, że substancja ta pełni wiele bardzo ważnych funkcji biologicznych w skórze.

Kwas L-askorbinowy stanowi kluczowy składnik dla prawidłowej budowy oraz funkcjonowania tkanki łącznej skóry. Wiąże się to z faktem że witamina C jest niezbędna przy produkcji kolagenu, gdzie stanowi kofaktor do hydroksylacji proliny i lizyny [59,60].

Niedobór kwasu L-askorbinowego w skórze powoduje nieprawidłowości w strukturze włókien kolagenowych oraz elastylowych, czego efektem jest utrata jędrności oraz elastyczności skóry, jak również zmarszczki. Bardzo ważnym aspektem jest również uszkodzenie włókien kolagenowych budujących ściany naczyń krwionośnych w skutek czego tracą one odporność na rozciąganie, przez co łatwiej pękają tworząc teleangiektazje oraz mikrowylewy podskórne [61].

Znaczącą rolę witamina C odgrywa również w procesie redukcji przebarwień. Wykazano, że kwas L-askorbinowy stanowi inhibitor tyrozynazy, czyli enzymu, który katalizuje hydroksylację tyrozyny do dihydroksyfenyloalaniny (DOPA). Dodatkowo faktem jest, że skóra z odpowiednio wysokim poziomem witaminy C jest mniej podatna na powstawanie przebarwień skórnych pod wpływem promieniowania UV [62].

Ważny jest również fakt, że kwas L-askorbinowy należy do najsilniejszych przeciwutleniaczy, który może neutralizować wolne rodniki powstałe w skutek ekspozycji UV jak również pochodzące z zanieczyszczonego środowiska. Proces ten ma szczególne znaczenie w naskórku. Badania pokazują jednak, że najlepsze efekty w redukcji uszkodzeń oksydacyjnych tkanek uzyskuje się przy połączeniu witaminy C z witaminą E, co potwierdza tylko znany fakt, że kwas L-askorbinowy ma zdolności regeneracyjne tokoferolu [63,64].

W prowadzonych badaniach Savini [65] wykazał również, że witamina C odgrywa rolę w różnicowaniu keratynocytów. Dodatkowo zaobserwował, że wzrasta liczba ziarnistości keratohialiny, znajdującej się w warstwie ziarnistej naskórka, która pośrednio uczestniczy w produkcji keratyny. Inne badania wykazały również, że kwas L-

askorbinowy wspomaga syntezę i organizacje lipidów barierowych, co udowadnia korzystny wpływ witaminy C na skóry suche z uszkodzonym płaszczem hydrolipidowym [66].

Oprócz wyżej wymienionych właściwości witaminy C, badacze udowodnili również, że witamina C zwiększa proliferację i migrację fibroblastów skórnych, co stanowi niezbędny element do prawidłowego gojenia się ran. Dokładne mechanizmy tej aktywności są jeszcze nieznane [67].

Potwierdzono również przeciwzapalne właściwości witaminy C, związane z hamowaniem uwalniania cytokin prozapalnych, a głównie Interleukiny 10, dzięki zmniejszaniu aktywności jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF-κB. Kwas L-askorbinowy oprócz działania przeciwzapalnego wykazuje również pozytywny wpływ na układ immunologiczny skóry SIS (ang. *skin immune system*), którego zadaniem jest protekcja skóry przed wnikaniem szkodliwych substancji tj. drobnoustrojów, alergenów, metali ciężkich oraz substancji toksycznych [68].

2.3.3. Formy witaminy C stosowane w kosmetykach

Kwas L-askorbinowy to substancja hydrofilowa bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie, słabo w oleju. Jest niestabilna wobec wysokiej temperatury, światła oraz wilgoci, dodatkowo z łatwością ulega utlenianiu pod wpływem tlenu atmosferycznego. To wszystko sprawia, ze penetracja witaminy C w postaci kwasu L-askorbinowego przez skórę jest znacznie utrudniona. Dlatego też w preparatach kosmetycznych stosuje się różne formy witaminy C:

- kwas L-askorbinowy „czysty". Charakteryzuje się największą biodostępnością, a co za tym idzie najlepszymi właściwościami dla skóry. Najczęściej występuje w formie ampułek w „jednorazowych" kosmetykach, ze względu na bardzo dużą niestabilność. W preparatach z dłuższym okresem przydatności musi być łączony z odpowiednimi stabilizatorami, gdzie najczęściej wybierany jest kwas ferulowy. Dodatkowo aby substancja mogła przeniknąć przez warstwę rogową pH produktu musi być obniżone do 3,5.
- palmitynian ascorbylu (INCI: *Ascorbyl Palmitate*). Jest rozpuszczalnym w tłuszczach odpowiednikiem kwasu askorbinowego. Charakteryzuje się bardzo dużą stabilnością, lecz najmniejszą biodostępnością. W naskórku ulega hydrolizie do kwasu askorbinowego oraz kwasu palmityniowego. Witamina w tej postaci wykazuje protekcyjne działanie w stosunku do promieniowania UVA i UVB oraz redukuje rumień

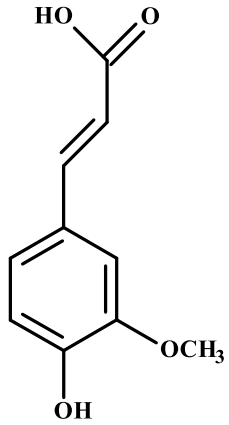
po opalaniu. Substancja ta najczęściej łączona jest w preparacie z rozpuszczalnikami takimi jak glikol propylenowy oraz glikol butylenowy, które gwarantują jej odpowiednie przenikanie przez warstwę rogową [69].

- sól magnezowa fosforanu askorbylu MAP (INCI: *Magnesium Ascorbyl Phosphate*). Jest bardziej stabilna i odporna na utlenianie niż czysta witamina C. Kwas L-askorbinowy z tej postaci powstaje w skutek działania enzymu fosfatazy, która przeprowadza hydrolizę tej soli. Substancja ta wykazuje działanie rozjaśniające i antyoksydacyjne, ale nie wpływa na syntezę kolagenu.
- sól sodowa fosforanu askorbylu SAP (INCI: *Sodium Ascorbyl Phospate*). Substancja ta ma bardzo zbliżone właściwości do soli magnezowej fosforanu askorbylu, ale dodatkowo wykazuje działanie antybakteryjne. Badania potwierdzają również, że witamina C w postaci soli sodowej fosforanu askorbylu, zapobiega również tworzeniu się czopów zaskórnikowych oraz hamuje utlenianie się składników tłuszczowych łoju. W związku z tym często używana jest w preparatach przeciwtrądzikowych [66].
- glukozyd askorbylu (INCI: *Ascorbyl Glucoside*). Postać ta powstaje w skutek połączenia kwasu askorbinowego z skrobią, która stanowi w tym przypadku stabilizator cząsteczki. Takie rozwiązanie umożliwia stopniowe uwalnianie witaminy do poszczególnych warstw naskórka. Substancja ta działa wyrównująco na koloryt oraz stymuluje syntezę kolagenu.
- kwas 3-0-ethyl askorbinowy (INCI: *3-0-Ethyl Ascorbic Acid*). Stanowi bardzo stabilną formę witaminy C, która w odróżnieniu od pozostałych nie jest przekształcana wewnątrz skóry na drodze hydrolizy, lecz jest od razu bezpośrednio wykorzystywana przez tkanki. Bardzo dużą zaleta tej formy, jest to, że nie powoduje podrażnień, nawet w wysokich stężeniach. Kwas 3-0-ethyl askorbinowy działa antyoksydacyjnie, fotoprotekcyjnie, wzmaga syntezę kolagenu oraz rozjaśnia przebarwienia [69].
- tetraizopalmitynian askorbylu (INCI: *Tetrahexyldecyl ascorbate*). Ta postać witaminy C charakteryzuje się lipofilowością, przez co jest bardzo trwała i stabilna, oraz świetnie przenika przez skórę. Działa antyoksydacyjnie, depigmentacyjnie oraz wpływa na syntezę kolagenu [70].

2.4. Kwas ferulowy jako pochodna kwasu cynamonowego

2.4.1. Właściwości kwasu ferulowego

Kwas ferulowy (kwas 4-hydroksy-3-metoksycynamonowy) ang. *ferulic acid* (Rycina 2) stanowi pochodną kwasu cynamonowego. Jest związkiem aromatycznym, który posiada trzy charakterystyczne podstawniki, z których podstawnik hydroksylowy odpowiedzialny jest za jego właściwości antyoksydacyjne [71,72].



Rycina 2. *Struktura kwasu ferulowego*

Bardzo ważnym elementem budowy kwasu ferulowego, który determinuje zwalczanie wolnych rodników jest obecność elektronowych grup dostarczających elektrony do pierścienia benzenowego tj. grupa hydroksylowa i metoksylowa. Ponadto podstawnik karboksylowy sprzężony w wiązaniem podwójnym stwarza dodatkowe miejsce ataku wolnych rodników, co jednocześnie stanowi mechanizm obronny błony komórkowej. Co więcej obecność grupy karboksylowej działa jak kotwica łącząc się z dwuwarstwową błoną lipidową zapewnia jej ochronę przed peroksydacją lipidów. Nie bez znaczenia jest także charakterystyczna struktura kwasu ferulowego, która ze względu na obecność pierścienia benzenowego sprzężonego z nienasyconym łańcuchem bocznym, może tworzyć kompleks stabilizujący rodnik fenoksylowy, który odpowiada za jego silne działanie antyoksydacyjne [72,73].

Kwas ferulowy jest powszechnym składnikiem roślin, który powstaje w procesie metabolizmu fenyloalaniny i tyrozyny. Można go znaleźć w szpinaku, pietruszce, winogronach, rabarbarze, a także w owsie, życie i jęczmieniu. Występuje w nasionach

i liściach zarówno w postaci wolnej, jak i kowalencyjnie związanej z ligniną i innymi biopolimerami [74].

2.4.2. Zastosowanie kwasu ferulowego w kosmetologii

Kwas ferulowy znajduje szerokie zastosowanie w preparatach kosmetycznych, co wynika z faktu, że substancja ta pełni wiele bardzo ważnych funkcji biologicznych w skórze.

Przede wszystkim kwas ferulowy stanowi bardzo dobry antyoksydant, który oprócz zwalczania reaktywnych form tlenu (ROS) lub rodników azotowych jest odpowiedzialny za chelatowanie metali przejściowych, takich jak Cu(II) lub Fe(II) [75]. Dodatkowo stanowi inhibitor enzymów katalizujących powstawanie wolnych rodników. Badania wykazały, że zastosowanie kwasu ferulowego na skórę przed ekspozycją na UV zapobiega uszkodzeniu DNA oraz reguluje ekspresję genów naprawczych. Kwas ferulowy znacząco zmniejsza również aktywację MMP-2 i MMP-9 pod wpływem promieniowania UVB, które są odpowiedzialne za proces fotokancerogenezy [27]. Wyżej wymienione właściwości umożliwiają stosowanie preparatów z kwasem ferulowym w pielęgnacji skór fotouszkodzonych, z widocznymi oznakami starzenia jak również w preparatach po opalaniu.

Bardzo istotny jest również fakt, że kwas ferulowy wywiera wpływ na angiogenezę, wpływając na aktywność głównych czynników w nim uczestniczących, tj. na czynnik wzrostu śródbłonka naczyń VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) oraz płytkowy czynnik wzrostu PDGF (ang. *platelet derived growth factor*). Kwas ferulowy znajduje również zastosowanie w preparatach przyspieszających gojenie ze względu na jego silne właściwości regenerujące. Dodatkowo ze względu na swoją zdolność do hamowania tyrozynazy oraz proliferacji melanocytów jest on również stosowany w preparatach rozjaśniających [76].

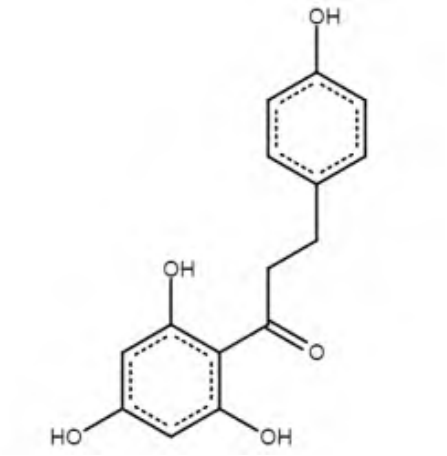
Bardzo często kwas ferulowy w kosmetykach stosowany jest jako stabilizator i przeciwutleniacz dla powszechnie znanych substancji takich jak witamina C lub E.

Zalecane stężenie kwasu w tego typu produktach kosmetycznych wynosi od 0,5 do 1%. Kwas ferulowy stosowany jest również w kosmetologii. Najczęściej stosowany jest w stężeniu 12% oraz w połączeniu z witaminą C i kwasem hialuronowym, w zabiegach mezoterapii igłowej, bezigłowej oraz w połączeniu z peelingami chemicznymi.

2.5. Floretyna jako pochodna chalkonu

2.5.1. Właściwości floretyny

Floretyna (2,4,6-trihydroksy-3-(4-hydroksyfenylo)propiofenon) ang. *phloretin* (Rycina 3) należy do aktywnych biologicznie flawonoidów. Flawonoidy to natomiast polifenole, które stanowią duży odsetek roślinnych produktów naturalnych. Charakteryzują się silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi i chelatującymi. Floretyna klasyfikowana jest chemicznie jak dihydrochalkon występujący w owocach, a szczególnie w jabłkach i gruszkach. Sam mechanizm produkcji floretyny na przykład w jabłkach związany jest z ochroną rośliny przed szkodliwymi czynnikami środowiskowymi [77].



Rycina 3. *Struktura chalkonu – floretyny.*

Dzięki badaniu Auner i innych z 2005 potwierdzono lipofilowość floretyny. Dzięki czemu można wskazać na wysoką rozpuszczalność tej substancji w lipidach skóry [78]. Inne badania potwierdziły właściwości floretyny jako promotora przejścia, zwiększającego penetrację substancji aktywnych [79,80].

Znana jest również właściwość floretyny jako środka modyfikującego potencjał dipolowy. Dzięki temu wpływa ona na właściwości elektryczne monowarstw lipidowych oraz ich przepuszczalność [77].

2.5.2. Zastosowanie floretyny w kosmetologii

Dzięki swoim właściwościom floretyna znalazła szerokie zastosowanie w kosmetologii i dermatologii. Stanowi doskonałe uzupełnienie terapii antiaging, depigmentacyjnych, przeciwtrądzikowych oraz jest stosowana w terapiach raków skóry.

Floretyna ma udowodnioną zdolność tłumienia i redukowania odpowiedzi zapalnej skóry co jest kluczowe w terapii skór fotouszkodzonych. Dodatkowo dobre efekty terapeutyczne w leczeniu fotostarzenia osiąga się ze względu na hamownie przez floretynę aktywności metaloproteinazy MMP-1 oraz elastazy [77,81].

Kolejną kluczową właściwością floretyny jest działanie depigmentacyjne. Jako flawonoid ma udowodnione działanie antyoksydacyjne posiadające zdolność do chelatowania jonów miedzi czyli kluczowego jonu metalu w miejscu aktywnym tyrozynzy. Ponadto floretyna może działać jako inhibitor analogów substratowych przeciwko melanogenezie [77].

Dzięki swoim przeciwzapalnym właściwościom floretyna znalazła zastosowanie w terapiach trądziku pospolitego. Dodatkowo badania wykazały, że substancja ta posiada właściwości przeciwbakteryjne, hamując *Cutibacterium acnes, Propionibacterium granulosum, Staphylococcus epidermidis*. Ponadto badanie kliniczne miejscowego stosowania preparatu z 0,05% floretyną udowodniło klinicznie i statystycznie zmniejszoną liczbę zaskórników oraz redukcje produkcji sebum [77,82].

Floretyna wykazała również właściwości przeciwnowotworowe, gdzie odnotowano znaczące zmniejszenie masy guza (badanie na myszach) w przypadku terapii czerniaków [83]. Badania te wykazały, że floretyna ma właściwości przeciwczerniakowe, jednak do tej pory brakuje badań potwierdzających skuteczność w przypadku skóry ludzkiej [84].

2.6. Mezoterapia mikroigłowa

2.6.1. Charakterystyka zabiegu mezoterapii mikroigłowej

Mezoterapia mikroigłowa to metoda mechanicznego nakłuwania skóry za pomocą bardzo cienkich igieł znajdujących się w specjalnym urządzeniu. Celem zabiegu jest powstanie kontrolowanego uszkodzenia tkanki. Liczne nakłucia powodują powstanie mikrourazów często z mikrokrwawieniem. Uszkodzenia naczyń determinuje aktywacje

trombocytów. W wyniku tego procesu obserwuje się uwolnienie tzw. czynników wzrostu [85].

Do najważniejszych czynników wzrostu zaliczamy:

- ✓ TGF-α - transformujący czynnik wzrostu alfa (ang. *transforming growth factor alpha*)
- ✓ TGF-β - transformujący czynnik wzrostu beta (ang. *transforming growth factor beta*),
- ✓ TGF-2 - czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *transforming growth factor*),
- ✓ PDGF - płytkowy czynnik wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor*),
- ✓ EGF - epidermalny czynnik wzrostu (ang. *epidermal growth factor*),
- ✓ CTGF - czynnik wzrostu tkanki łącznej (ang. *connective tissue growth factor*) [85,86].

Mezoterapia mikroigłowa powoduje proces stymulacji skóry, który obejmuje trzy etapy:

- ✓ pierwszy etap to stan zapalny, gdzie dochodzi do produkcji wcześniej wymienionych czynników wzrostu, które pobudzają fibroblasty do produkcji kolagenu i elastyny.
- ✓ drugi etap to produkcja kolagenu oraz elastyny.
- ✓ trzeci etap to „remodeling". Kolagen zostaje przekształcony do typu I.

Dodatkowo cały czas zachodzi proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Cały proces powoduje zwiększenie elastyczności tkanek oraz jej wytrzymałości mechanicznej [87].

Pełna regeneracja oraz przebudowa skóry w obszarze poddanym zabiegowi to czas około kilku tygodni. Jednakże proces ten zależny jest o głębokości użytych nakłuć. Kluczowy w tym procesie jest fakt, że naskórek goi się na tyle szybko, że cały proces regeneracji może zachodzić w bezpiecznych warunkach przy dobrze funkcjonującej barierze ochronnej, która uniemożliwia wnikanie szkodliwych czynników zewnętrznych [84].

Oprócz korzyści płynących z samego nakłuwania skóry w przypadku mezoterapii mikroigłowej mamy możliwość wprowadzenia głębiej substancji aktywnych, które zostają użyte do zabiegu. W normalnych warunkach, przy nienaruszonej barierze skóry substancje czynne zawarte w preparatach mają bardzo utrudnioną drogę penetracji.

Podczas wykonywania mikrourazów przez barierę skóry dobrze dobrana substancja ma szansę przeniknąć głębiej i wzmocnić efekty terapeutyczne procedury [79].

W celu uzyskania optymalnych efektów pozabiegowych oraz zminimalizowania ryzyka wystąpienia reakcji niepożądanych pacjenci powinni przestrzegać kilku zasad. Najważniejszą kwestią jest odpowiednia pielęgnacja regenerującymi preparatami oraz aplikacja kremów z SPF 50. Dodatkowo po zabiegu nie zaleca się korzystania z sauny czy basenu przez okres 7 dni oraz z kąpieli słonecznych przez okres minimum 2 tygodni.

Bezpośrednio po zabiegu prawidłowym odczynem skóry jest silne zaczerwienie i podrażnienie, które zwykle ustępują po kilku godzinach. Efekty uboczne terapii w postaci przebarwień, miejscowego zakażenia oraz nadwrażliwości występują bardzo rzadko [85,86].

2.6.2. Zastosowanie mezoterapii mikroigłowej w kosmetologii

Zabieg mezoterapii mikroigłowej jest często wykonywany w gabinetach kosmetologicznych oraz medycyny estetycznej. Wynika to z jego bardzo dużej skuteczności i małej inwazyjności. Najczęstsze wskazania do wykonania mezoterapii mikroigłowej obejmują:

- ✓ zwiększenie przenikania substancji aktywnych przez barierę skórną,
- ✓ szeroko pojęta profilaktyka przeciwstarzeniowa - zwiększona produkcja kolagenu oraz elastyny,
- ✓ lifting- poprawa napięcia nadmiernie zwiotczałej skóry,
- ✓ poprawa kolorytu skóry-pogrubienie żywej warstwy naskórka, poprawa, mikrokrążenia, tworzenie się nowych naczyń krwionośnych,
- ✓ likwidacja zmarszczek- spłycenie głębokości zmarszczek,
- ✓ terapie blizn potrądzikowych - spłycenie i wyrównanie kolorytu blizn,
- ✓ poprawa wyglądu rozstępów- spłycenie i wygładzenia,
- ✓ wspomaganie terapii trądziku pospolitego - regulacja produkcji sebum,
- ✓ terapie przebarwień- regulacja procesu melanogenezy,
- ✓ terapie rumienia- redukcja powierzchownych naczyń krwionośnych,
- ✓ terapie wypadania włosów- poprawa kondycji skóry głowy [86].

Skuteczność oraz inwazyjność terapii zależy od głębokości nakłuwania. W zależności od głębokości nakłuć można wyróżnić mikronakłuwanie kosmetologiczne, medyczne oraz chirurgiczne.

Mikronakłuwanie kosmetologiczne obejmuje pracę na igłach od 0,1 do 0,3 mm. W przypadku tak płytkiego nakłuwania nie obserwuje się wzmożonej produkcji kolagenu. Głównym celem zabiegu jest zwiększenie penetracji substancji aktywnej w głąb skóry.

W przypadku mikronakłuwania medycznego stosuje się igły o długości od 0,5 do 2 mm. Podczas procedury zabiegowej dochodzi do uszkodzenia skóry na zakładanej głębokości, czego konsekwencją jest uwolnienie czynników wzrostu i zwiększona produkcja kolagenu. Najczęściej w zabiegach rewitalizujących oraz redukujących blizny na twarzy stosuje się nakłucia do 1mm. Natomiast w przypadku wykonywania zabiegu na ciele przyjmuje się głębokość 2 mm.

Nakłuwanie chirurgiczne wykorzystuje igły o głębokości od 3 do 4 mm. Wówczas zabiegiem objęta jest cała skóra oraz tkanka podskórna. Efektem jest silna przebudowa tkanek na całej grubości skóry [87]. Użyta długość igieł zawsze powinna być dostosowana do okolicy zabiegowej oraz zamierzonego efektu.

2.7. Sonoforeza

2.7.1. Charakterystyka zabiegu sonoforezy oraz jego zastosowanie w kosmetologii

Sonoforeza to zabieg kosmetyczny, który polega na wykorzystaniu ultradźwięków. Podczas procedury zabiegowej dochodzi do usprawnienia transportu substancji aktywnych w głąb skóry przez fale ultradźwiękowe. Potwierdzają to badania dotyczące wpływu ultradźwięków na błony plazmatyczne erytrocytów, które wykazały zmiany czynnościowe związane z zwiększeniem ich przepuszczalności [88]. Fala ultradźwiękowa zwiększa energię kinetyczną cząsteczki substancji kosmetycznej stosowanej podczas zabiegu oraz wpływa na zmianę potencjału spoczynkowego błon komórkowych.

Ultradźwięki umożliwiają związkom polarnym oraz substancjom charakteryzującym się dużą masą cząsteczkową przejście przez bariery naskórkowe. Głębokie przenikanie substancji jest możliwe dzięki wprowadzeniu płynów z substancjami aktywnymi w ruch oscylacyjny [89]. Dodatkowo, w trakcie zabiegu dochodzi do wzrostu przepuszczalności błon komórkowych dla substancji czynnych, zwiększenia przewodnictwa elektrolitycznego, aktywacji procesów enzymatycznych,

metabolicznych, a także przyspieszenia regeneracji. Zwiększenie tempa przemieszczania się jonów i metabolitów w tkankach powoduje lepsze ukrwienie skóry [90].

W kosmetologii zazwyczaj wykorzystuje się ultradźwięki o średniej i wysokiej częstotliwości (1-10 MHz). Na efekt zabiegu wpływa rodzaj wprowadzonych substancji oraz wpływ samych ultradźwięków na tkanki. Najczęściej w terapiach zabiegowych stosuje się preparaty bogate w witaminy: C, K, PP, różnego rodzaju wyciągi roślinne oraz kwas hialuronowy [91,92].

Aby zmaksymalizować skuteczność zabiegową preparaty stosowane podczas zabiegu muszą być odpowiednio przygotowane przez firmę kosmetyczną i przeznaczone do wprowadzania za pomocą ultradźwięków. Podczas sonoforezy mogą być stosowane różne formy preparatów kosmetycznych takie jak żele, kremy lub emulsje. Preparaty te powinny charakteryzować się zdecydowanie większym uwodnieniem oraz posiadać odpowiednie stężenie substancji aktywnych w celu osiągnięcia zamierzonego efektu zabiegu [93].

Kluczową kwestią w efektywności zabiegu sonoforezy jest również stan skóry, na której wykonywany jest zabieg. W zależności od zastosowanego preparatu kosmetycznego i substancji aktywnych w nim zawartych sonoforezę można stosować podczas zabiegów pielęgnacyjnych w przypadku każdego rodzaju cery. Bardzo często procedurę sonoforezy stosuje się w zabiegach wspomagających leczenie trądziku pospolitego i różowatego, w terapiach przeciwstarzeniowych i liftingujących oraz wspomagająco przy zabiegach antycellulitowych i modelujących sylwetkę [94].

III. CELE I ZAŁOŻENIA PRACY

W świetle obecnej wiedzy wiadomo, że witamina C wywiera korzystny wpływ na fotostarzenie skóry. Dostępnych jest jednak niewiele publikacji oceniających wpływ witaminy C zarówno w czystej postaci jak i w mieszankach w połączeniu z kwasem ferulowym lub z floretyną na terapię skór z problemem rumienia oraz wrażliwości.

W pracy postanowiono ocenić wpływ czystego kwasu L-askorbinowego, kwasu L-askorbinowego połączonego z kwasem ferulowym oraz kwasu L-askorbinowego połączonego z kwasem ferulowym i floretyną na wybrane parametry skóry twarzy. Dodatkowo oceniono różnicę między zastosowaniem mezoterapii mikroigłowej oraz sonoforezy na efektywność podawanych substancji. Badanie dotyczyło głównie skór rumieniowych oraz wrażliwych, gdzie sprawdzano, który preparat na bazie kwasu L-askorbinowego przyniesie maksymalną redukcję zmian rumieniowych i nadwrażliwości przy minimalnych reakcjach niepożądanych.

Cele pracy

1. Ocena porównawcza wpływu 10% kwasu L-askorbinowego (roztwór iniekcyjny 100mg/ml), 20% kwasu L--askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz 10% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną na stopień redukcji zmian rumieniowych.
2. Ocena aparaturowa wpływu 10% czystego kwasu L-askorbinowego (roztwór iniekcyjny 100mg/ml), 20% kwasu L--askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz 10% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną na: nawilżenie, transepidermalną utratę wody, poziom melaniny, nasilenie rumienia oraz elastyczność skóry.
3. Ocena aparaturowa oraz subiektywna skuteczności wpływu kwasu L-askorbinowego na nawilżenie, transepidermalną utratę wody, poziom melaniny, nasilenie rumienia oraz elastyczność w przypadku skór wrażliwych.
4. Ocena porównawcza wpływu mezoterapii mikroigłowej oraz sonoforezy na skuteczność aplikowanych substancji.
5. Przygotowanie i opracowanie ankiety pozwalającej na porównanie skuteczności i bezpieczeństwa terapii według indywidualnej oceny osób badanych.

IV. CZĘŚĆ BADAWCZA

4.1. Materiały i metodyka

4.1.1. Charakterystyka grupy badanej

Badanie obejmowało 72 osoby w przedziale wiekowym od 18 do 63 lat, które podzielono na 3 grupy. Kryteria wyłączenia z badania w przypadku każdej grupy zawsze były takie same: ciąża i laktacja, aktywne zmiany wirusowe, bakteryjne i grzybicze, a także udział w innych terapiach dermatologicznych w czasie trwania badania i 6 miesięcy wcześniej. Badanie przeprowadzono zgodnie z wytycznymi Deklaracji Helsińskiej z 1964 r. i jej późniejszymi zmianami, a także uzyskało akceptację komisji bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (nr RNN/251/19/KE). Wszystkie kobiety biorące udział w badaniu podpisały formularz świadomej zgody na terapię (Załącznik 3). Charakterystykę badanych grup przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. *Charakterystyka grup badawczych*

	Ilość osób	Przedział Wiekowy	Średnia wieku	Zastosowany preparat
Grupa I	25	24-63	41,7	20% kwas L-askorbinowy z 0,5% kwasem ferulowym
Grupa II	22	18-60	42,1	10% kwas L-askorbinowy z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną
Grupa III	25	25-63	43,2	roztwór iniekcyjny zawierający 500 mg kwasu L-askorbinowego; 100mg/ml

Pierwszą i drugą grupę stanowiły kobiety ze skórą rumieniową, u których ze względu na wiek u większości osób badanych można było zaobserwować również oznaki starzenia w postaci utraty jędrności, nadmiernej suchości czy nierównego kolorytu. Dodatkowo badanie MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy) wykazało, że 100% grupy badanej za pomocą sondy Mexametr uzyskało wstępny wynik

>300 co klasyfikuje skórę jako rumieniową zgodnie z interpretacją wyników przez producenta.

Trzecią grupę stanowiła grupa badana, u których skóra, oprócz rumienia i pierwszych oznak starzenia, została sklasyfikowana jako skóra wrażliwa. Kryterium kwalifikującym skórę osoby badanej jako wrażliwą była ankieta wstępna ze wskazaniem czynników powodujących wzmożony rumień i dyskomfort skóry oraz wywiad. Jako dodatkowe kryterium zastosowana została wstępna ocena rumienia, TEWL oraz nawilżenia za pomocą wielosondowego urządzenia MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy). Na podstawie oceny wstępnej skórę wszystkich badanych zakwalifikowano jako wrażliwą, ale w różnym stopniu. Osoby badane wskazały, że ich skóra reaguje wzmożonym zaczerwieniem na czynniki drażniące takie jak: alkohol, ostre potrawy, ekspozycja na promieniowanie UV, stres, duże amplitudy temperatur, leki, wysiłek fizyczny, saunę. Dodatkowo badanie MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy) wykazało, że 100% grupy badanej za pomocą sondy Mexametr uzyskało wstępny wynik >300 co klasyfikuje skórę jako rumieniową zgodnie z interpretacją wyników przez producenta. Poza tym poprzez pomiar nawilżenia stwierdzono, że 34% osób badanych ma skórę suchą, co często jest charakterystyczne dla skór wrażliwych.

4.1.2. Procedury zabiegowe

U każdej osoby badanej wykonano 6 zabiegów w dwutygodniowych odstępach.

Preparaty użyte w badaniu to:

1. **Grupa I** – 20% kwas L-askorbinowy połączony z 0,5% kwasem ferulowym pH=3.0 firmy Dermomedica Cosmeceuticals
2. **Grupa II** – 10% kwas L-askorbinowy połączony z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną pH=3.0 firmy Dermomedica Cosmeceuticals.
3. **Grupa III** – roztwór iniekcyjny zawierający 500mg kwasu L-askorbinowego (100mg/ml; TEVA).

Substancje aktywne wprowadzane były za pomocą mezoterapii mikroigłowej głębokość 0,2 mm na prawej stronie twarzy oraz za pomocą sonoforezy przez 4 minuty lewa strona twarzy.

Sam zabieg zawsze był przeprowadzany w identyczny sposób. Obejmował następujące etapy:

1. Mycie skóry łagodnym preparatem o fizjologicznym pH- Cetaphil.
2. Dezynfekcja obszaru zabiegowego- Skinsept.
3. Aplikacja substancji czynnej i wprowadzenie jej za pomocą mezoterapii mikroigłowej 0,2 mm (prawa strona) lub za pomocą sonoforezy (lewa strona).
4. Aplikacja kremu z filtrem SPF 50.

Zabiegi przeprowadzane były w katedrze Kosmetologii na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi lub w gabinecie kosmetologicznym ARAD (Skin Masters).

4.1.3. Ocena aparaturowa

W pierwszej grupie uwzględniono 3 punkty pomiarowe – przed rozpoczęciem terapii, po 3 zabiegu oraz 2 tygodnie po 6 zabiegu. W dwóch pozostałych grupach stan skóry oceniano przed rozpoczęciem terapii oraz 2 tygodnie po szóstym zabiegu.

Zmiany w nasileniu rumienia, zmiany pigmentacji jak również nawilżenie i transepidermalna utrata wody (TEWL) mierzono za pomocą MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy). Pomiary wykonywano w tym samym miejscu, w stabilnych warunkach (temperatura 20°C i wilgotność 45% + 5%) po 15-minutowej aklimatyzacji uczestników do warunków otoczenia. Oceniano również parametry skóry za pomocą urządzenia Cutometr®. W niniejszym badaniu skupiono się na następujących parametrach: zdolność skóry do powrotu do stanu wyjściowego (R1), elastyczność brutto (R2), elastyczność netto (R5). Wszyscy uczestnicy wypełnili również ankietę zawierającą pytania dotyczące subiektywnej oceny zaobserwowanych zmian skórnych.

Wyznaczono dwa punkty pomiarowe (Rycina 4):

1- na czole (na przecięciu linii pionowej przechodzącej przez zewnętrzny kąt oka i linii poziomej w odległości 2 cm od brwi),

2 - na policzku (na szczycie kości policzkowej- na przecięciu linii pionowej przechodzącej przez zewnętrzny kąt oka i linii poziomej wyznaczającej koniec skrzydełka nosa), najczęściej było to w miejscu najbardziej nasilonego rumienia.

Każdy pomiar został w każdym miejscu, wykonywany 3-krotnie, a końcowy wynik został zapisany jako średnią z pomiarów.

Rycina 4. *Punkty pomiarowe*

4.1.3.1. Ocena zabarwienia skóry i nasilenia rumienia - sonda meksametryczna

Meksameter® MX 18 jest stosowany do pomiarów poziomu zabarwienia skóry. Do tego celu wykorzystuje wiązkę światła o określonych długościach fal (światło zielone 568 nm, czerwone 660 nm, podczerwone 880 nm). Światło przenikając przez skórę ulega absorpcji przez melaninę i hemoglobinę, a jego część niezaabsorbowana ulega odbiciu i wraca do odbiornika sondy. Pomiar z wykorzystaniem Meksameter® MX 18 jest niezwykle krótki, trwa bowiem ok. 1s, a osiągnięty wynik ujmowany jest w przedziale 0-999 zarówno dla melaniny jak i hemoglobiny [94].

4.1.3.2. Ocena nawilżenia skóry - sonda korneometryczna

Urządzenie Corneometer® CM 825 daje możliwość oceny poziomu nawilżenia skóry, co jest możliwe poprzez dokładne określenie zawartości wody w warstwie rogowej naskórka. Zasada działania tego urządzenia opiera się na dokonaniu oceny pojemności elektrycznej dielektrycznego (nieprzewodzącego prądu) medium, czyli w tym przypadku naskórka. Zasięg obszaru pomiarowego wynosi ok. 10-20 μm, przy prądzie o częstotliwości w zakresie 09-1,2 MHz. Wyniki osiągnięte przez Corneometer® CM 825 ujmowane są w ramach określonego zakresu (0-120) [95].

4.1.3.3. Ocena transepidermalnej utraty wody (TEWL)

Mechanizm działania urządzenia Tewameter® TM 300 opiera się na opracowanym w 1855 roku prawie dyfuzji. Urządzenie to posiada głowicę zaopatrzoną w czujniki wilgotności, czujniki temperatury oraz aparaturę pomiarową, dzięki czemu jest w stanie w krótkim czasie (ok. 20s) dokonać precyzyjnej i odtwarzalnej oceny przeznaskórkowej utraty wody. Cykl pomiarowy odbywa się w tzw. „komorze otwartej", która zapobiega naruszeniu środowiska skóry. Wyniki osiągnięte przez Tewameter® TM 300 określane są w g/hm^2.

4.1.3.4. Ocena elastyczności skóry - sonda kutometryczna

Do oceny elastyczności skóry wykorzystywany jest Cutometer® Dual MPA 580. Urządzenie to daje możliwość dokładnego pomiaru mechanicznego odkształcenia skóry - w tym przypadku fragmentu o średnicy 2 mm. Mechanizm działania jest następujący: sonda pomiarowa najpierw wytwarza podciśnienie, które pozwala zassać badany fragment skóry. Po zaprzestaniu działania podciśnienia skóra wraca swojego stanu pierwotnego, a w tym czasie dzięki wbudowanym soczewkom optycznym Cutometer® Dual MPA 580 wykonuje pomiar głębokości zassania. Tryb pomiarowy o wartości podciśnienia 450 mbar został zastosowany w trakcie pomiarów [96,97].

Ocenie poddano trzy parametry:

R1 – opisuje zdolność powrotu skóry do pierwotnego stanu, jest to pierwsza minimalna amplituda, najniższy punkt pierwszej krzywej.

R2 – tzw. lepko-sprężystość (ang. *visco-elasticity*) - stosunek całkowitej elastyczności skóry do całkowitego rozciągnięcia. Im wyższa jego wartość, tym większa elastyczność skóry.

R5 – oznacza elastyczność netto. Elastyczność krzywej wzrasta im bardziej wartość zbliża się do 1 (100%).

4.1.4. Dokumentacja fotograficzna

Do wykonania dokumentacji fotograficznej wykorzystano system Fotomedicus (Elfo®), który posiada zintegrowany system fotograficzny oraz dedykowane oprogramowanie, dzięki czemu można dokumentować przebieg terapii zabiegowych. Fotografie wykonano zarówno przed rozpoczęciem jak i po zakończeniu całej serii zabiegów, w pięciu ustawieniach: na wprost, względem profilu prawego, względem profilu lewego oraz tak, aby uchwycić lewe środkowo – boczne ustawienie i prawe środkowo-boczne ustawienie.

4.1.5. Ocena subiektywna za pomocą ankiet

Po ostatnim zabiegu uczestnicy badania dokonali subiektywnej oceny skuteczności terapii za pomocą ankiety własnej (Załącznik 5). Osoby badane wypełniały dwa razy tą samą ankietę odnosząc się raz do prawej strony twarzy (mezoterapia mikroigłowa) oraz drugi raz do lewej strony twarzy (sonoforeza).

4.1.6. Statystyka

Statystyka grupa I

Średnia i odchylenie standardowe (średnia±SD) zostały zastosowane odpowiednio do opisu parametrów o rozkładzie normalnym. Zmienne, które nie miały rozkładu normalnego, wyrażono jako medianę i rozstęp międzykwartylowy (mediana (25%; 75%)). Założenie normalności oceniono za pomocą testu Shapiro-Wilka. Jednokierunkowa ANOVA z powtarzanymi pomiarami (z korektą sferyczności Greenhouse'a-Geissera lub Huynha-Feldta w stosownych przypadkach), a następnie testy post hoc Bonferroniego zostały przeprowadzone w celu statystycznej oceny różnic w normalnie rozłożonych parametrach skóry w czasie. Dla parametrów skóry odbiegających od normalności wykonano test Friedmana. Różnice w procentowych zmianach parametrów skóry w porównaniu z wartościami wyjściowymi między skórą leczoną sonoforezą i mezoterapią mikroigłową (0,2mm) porównano za pomocą testu Manna-Whitneya. Wartości P mniejsze niż 0,05 uznano za statystycznie istotne.

Statystyka grupa II i III

Do opisu parametrów o rozkładzie normalnym zastosowano średnią i odchylenie standardowe (średnia±SD). Różnice w procentowych zmianach parametrów skóry w stosunku do wartości wyjściowych obliczono na podstawie następującego wzoru: ((([x(t1)-x(t0)]/x(t0))*100). Zmienne, które nie miały rozkładu normalnego, wyrażono jako medianę i przedział kwartylowy (mediana (25%; 75%)). Do oceny różnic w parametrach skóry w czasie zastosowano test t dla prób sparowanych w przypadku danych o rozkładzie normalnym oraz test rang Wilcoxona w przypadku danych odbiegających od normalności. Test Manna-Whitneya zastosowano do statystycznej oceny różnic między niezależnymi próbami, których rozkład odbiega od normalnego. Statystyczną ocenę zmiennych kategorycznych przeprowadzono za pomocą testów chi kwadrat lub dokładnego testu Fishera. Wartości P mniejsze niż 0,05 uznawano za istotne statystycznie.

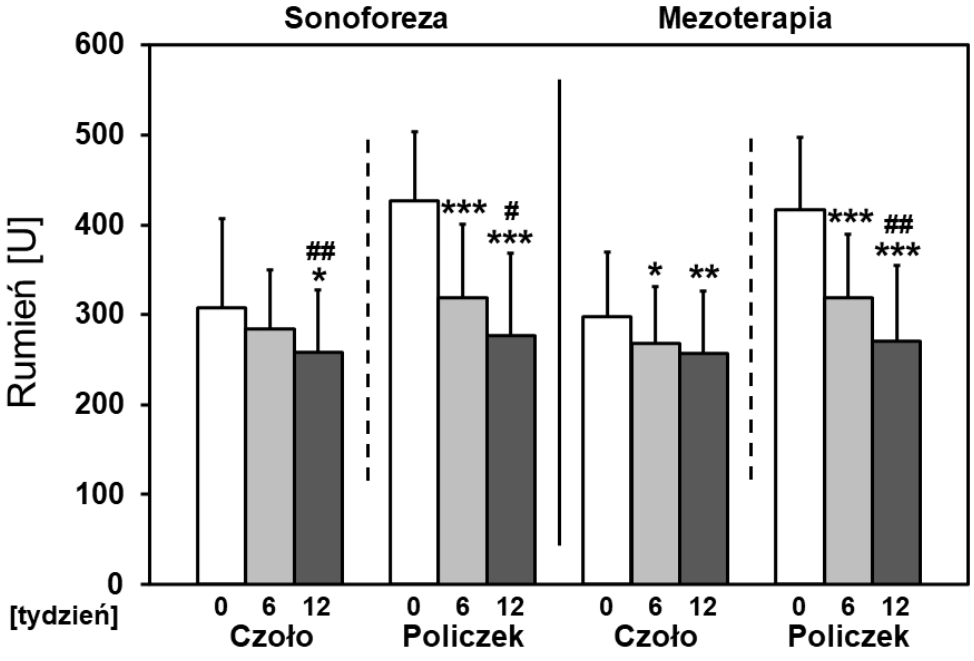
V. WYNIKI

W każdej grupie efekty terapeutyczne oceniona mierząc następujące parametry: rumień, pigmentację, nawilżenie, TEWL oraz elastyczność. Oceny skuteczności terapii dokonano także na podstawie zdjęć oraz ankiet. W pierwszej grupie pomiarów dokonano w trzech punktach czasowych (przed rozpoczęciem terapii, po trzecim zabiegu w serii oraz po ostatnim zabiegu), w pozostałych dwóch grupach pomiarów dokonano w dwóch punktach czasowych (przed rozpoczęciem terapii oraz po ostatnim zabiegu). Wyniki badań z grupy I zostały opublikowane w roku 2021 przez UMedical Reports pt. *Evaluation of the effectiveness of ascorbic acid preparations in the treatment of erythema by microneedle mesotherapy and sonophoresis* (Załącznik 6).

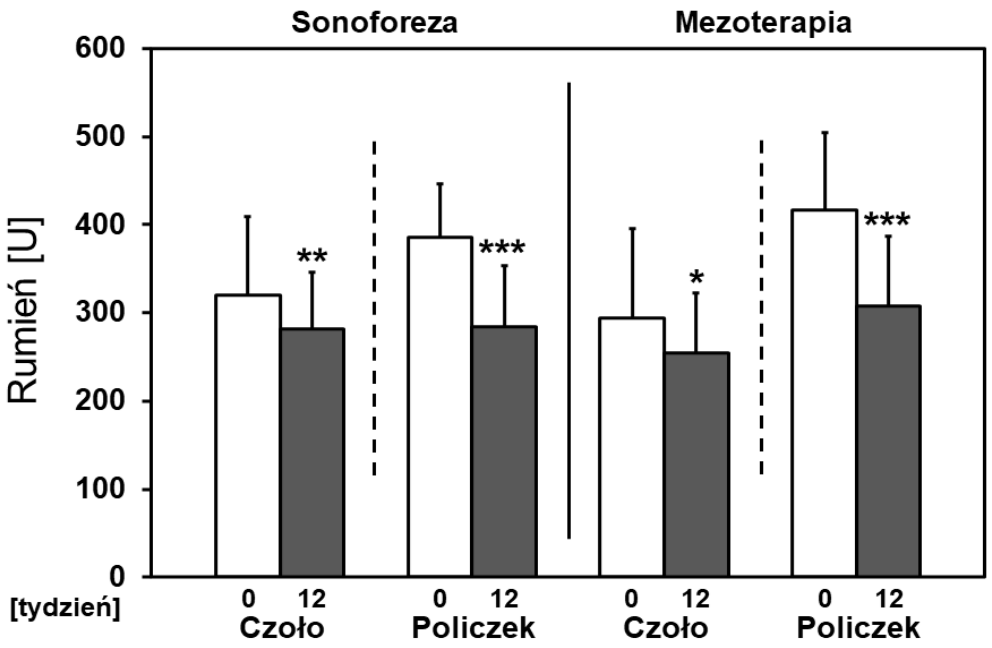
Podsumowanie rezultatów w poszczególnych grupach przedstawiono poniżej.

5.1. Rumień

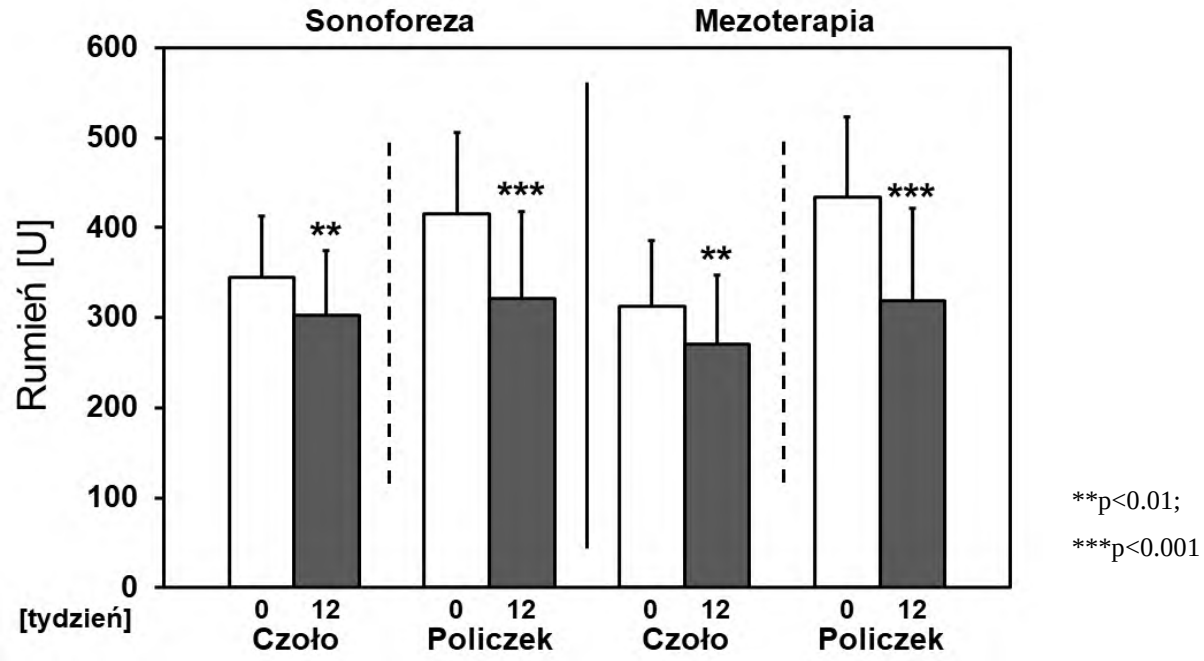
W każdej z trzech badanych grup odnotowano istotną statystycznie redukcję rumienia. Przedstawiają to poniższe wykresy (Wykres 1 grupa I, Wykres 2 grupa II, Wykres 3 grupa III) dokumentacja fotograficzna (Zdjęcie 1) oraz tabela z porównaniem skuteczności wszystkich terapii w redukcji rumienia (Tabela 2).



Wykres 1. *Wpływ terapii na redukcję zmian rumieniowych w grupie I*



Wykres 2. *Wpływ terapii na redukcję zmian rumieniowych w grupie II*



Wykres 3. *Wpływ terapii na redukcję zmian rumieniowych w grupie III*

Zdjęcie 1. *Efekt terapii rumienia po zastosowaniu roztworu iniekcyjnego zawierającego 500 mg kwasu L-askorbinowego oraz sonoforezy.*

Najbardziej widoczny rumień zazwyczaj obserwowany był na policzkach, więc tam jego redukcja była największa. Tabela przedstawia w jakim stopniu w poszczególnych grupach nastąpiła redukcja rumienia.

Tabela 2. *Porównanie stopnia redukcji zmian rumieniowych w poszczególnych grupach*

	Grupa 1		Grupa 2		Grupa 3	
	Lewy policzek	Prawy policzek	Lewy policzek	Prawy policzek	Lewy policzek	Prawy policzek
% redukcji rumienia	35,2%	34,9%	27,2%	24,9%	19,3%	23,5%

5.2. Pigmentacja

W grupie trzeciej zaobserwowano znaczące zmniejszenie pigmentacji po zastosowaniu obu terapii, zarówno na policzkach, jak i na prawym czole (Wykres 4). Redukcję odnotowano na policzkach po aplikacji witaminy C połączonej z mezoterapią mikroigłową o 7,4%. Sonoforeza + kwas L-askorbinowy spowodowały zmniejszenie pigmentacji o 12,5% na policzkach, natomiast na czole zmiany te wyniosły 10,8%.

Natomiast w grupie pierwszej oraz w grupie drugiej nie odnotowano istotnie statystycznej poprawy w redukcji pigmentacji (Tabela 3 i 4). U badanych osób nie występowała istotna hiperpigmentacja, jednakże ocena zdjęć wykazała rozjaśnienie i wyrównanie kolorytu skóry (Zdjęcie 2). Wyniki pomiarów sondy Mexametr systemu

MPA 580 (Courage & Khazaka) wykazały niewielkie zmniejszenie poziomu melaniny, jednak różnica nie była istotna statystycznie.

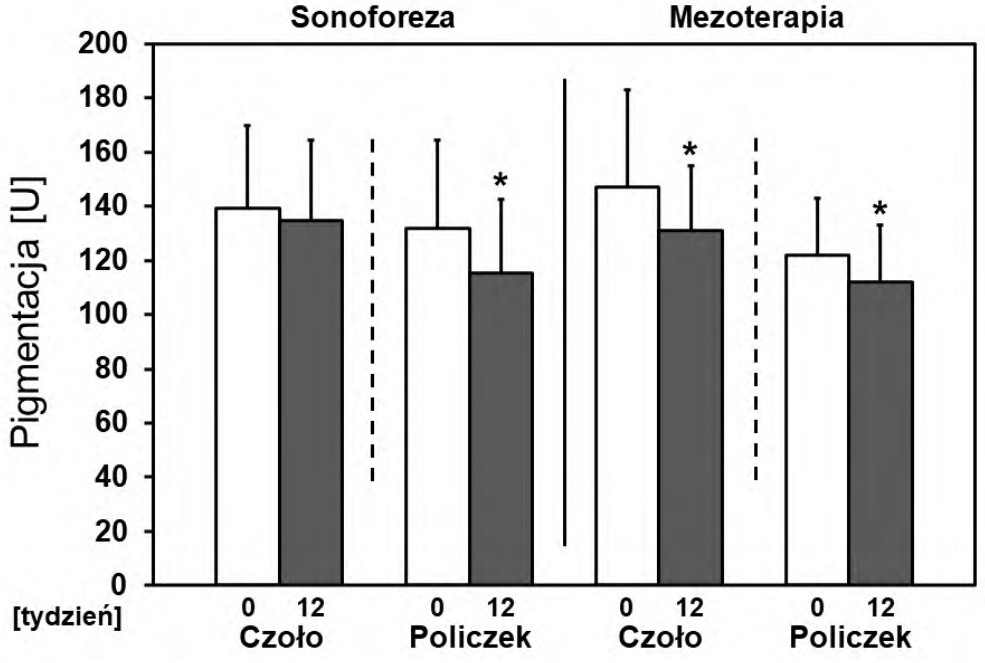
Tabela 3. *Wpływ terapii na pigmentację w grupie I*

Pigmentacja	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru			P
		Pomiar I (*)	Pomiar II (#)	Pomiar III	
Strona lewa	Czoło	140.6±±33.2	140.4±27.1	132.4±23.0	P=0.127
	Policzek	110.8±34.1	117.4±26.6	107.2±23.1	P=0.122
Strona prawa	Czoło	138.1±33.8	135.6±30.4	132.9±33.9	P=0.374
	Policzek	112.0±50.3	111.7±34.0	110.4±27.4	P=0.935

*p<0.05 vs pomiar I; #p<0.05 vs pomiar II

Tabela 4. *Wpływ terapii na pigmentację w grupie II*

Pigmentacja N=22	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru		Istotność (P)
		Pomiar I	Pomiar II	
Strona lewa	Czoło	136.6±32.8	135.9±28.6	NS (P=0.575)
	Policzek	131.0±42.3	122.4±30.3	NS (P=0.227)
Strona prawa	Czoło	144.9±29.8	134.6±21.9	P=0.022
	Policzek	127.2±45.1	121.6±25.1	NS (P=0.516)



*p<0.05;

Wykres 4. *Wpływ terapii na pigmentację w grupie III*

Zdjęcie 2. *Efekt terapii przebarwień po zastosowaniu roztworu iniekcyjnego zawierającego 500 mg kwasu L-askorbinowego oraz sonoforezy.*

5.3. Nawilżenie

W grupie drugiej zaobserwowano poprawę nawilżenia skóry na obu policzkach (Wykres 5). Nawilżenie wzrosło o 15,9% po stronie lewej i aż o 36,3% po stronie prawej w porównaniu do stanu wyjściowego. Natomiast wzrost nawilżenia w obrębie czoła nie był istotny statystycznie, ale wyjściowo był on w zakresie wyników prawidłowych.

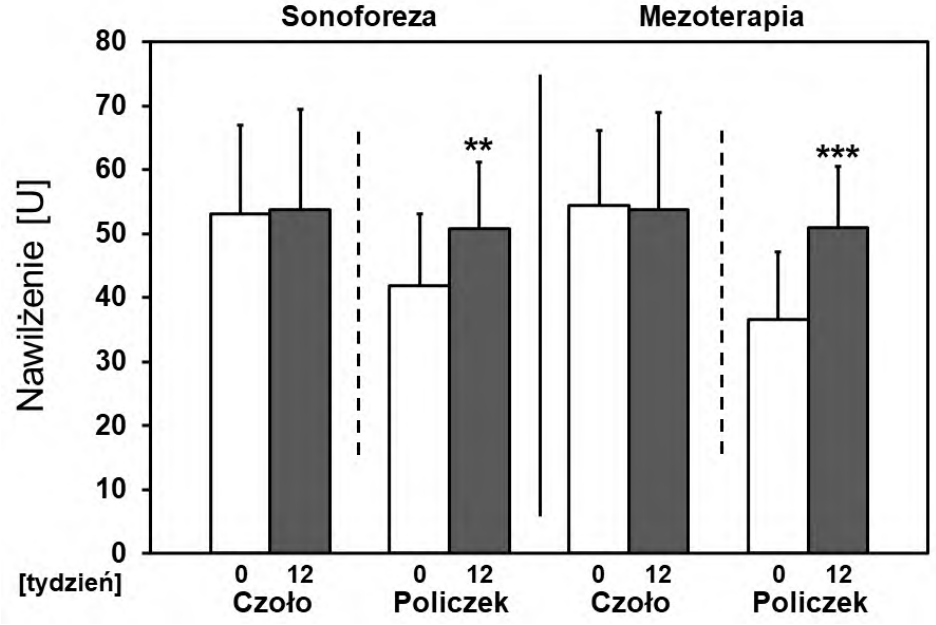
W grupie pierwszej nie odnotowano istotnej statystycznie poprawy nawilżenia (Tabela 5). Aczkolwiek wyjściowo w grupie badanych ten parametr był w normie.

W grupie trzeciej w analizie statystycznej przy uwzględnieniu całej grupy badawczej wyniki pomiarów nawilżenia nie były istotne statystycznie oprócz pomiarów z lewego policzka (Tabela 6). Aczkolwiek po szczegółowej analizie odnotowano, że zastosowanie kwasu L-askorbinowego i sonoforezy poprawiło stopień nawilżenia u 8 osób badanych, a w przypadku połączenia kwasu L-askorbinowego i mezoterapii mikroigłowej u 9 osób badanych zmieniając skórę z suchej 30-45 na skórę odpowiednio nawilżoną >45 zgodnie z interpretacją wyników sondy corneometr urządzenia MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy).

Tabela 5. *Wpływ terapii na nawilżenie w grupie I*

Nawilżenie	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru			P
		Pomiar I(*)	Pomiar II (#)	Pomiar III	
Strona lewa	Czoło	65.8±17.1	62.4±12.7	63.8±13.2	P=0.425
	Policzek	61.0±17.8	59.3±16.9	57.9±13.6	P=0.555
Strona prawa	Czoło	66.0±15.4	64.4±10.0	63.3±13.3	P=0.593
	Policzek	53.4±15.2	54.4±14.9	53.5±14.0	P=0.922

*p<0.05 vs pomiar I; #p<0.05 vs pomiar II



**p<0.01;

***p<0.001

Wykres 5. *Wpływ terapii na nawilżenie w grupie II*

Tabela 6. *Wpływ terapii na nawilżenie w grupie III*

Nawilżenie N=25	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru		Istotność (P)
		Pomiar I	Pomiar II	
Strona lewa	Czoło	55.5±12.8	55.8±15.1	NS (P=0.937)
	Policzek	46.5±14.3	53.2±12.8	**P=0.038**
Strona prawa	Czoło	53.9±17.6	58.1±15.9	NS (P=0.311)
	Policzek	43.7±13.8	48.9±13.2	NS (P=0.079)

5.4. Transepidermalna utrata wody

W grupie pierwszej nie odnotowano istotnej statystycznie poprawy TEWL (Tabela 7).

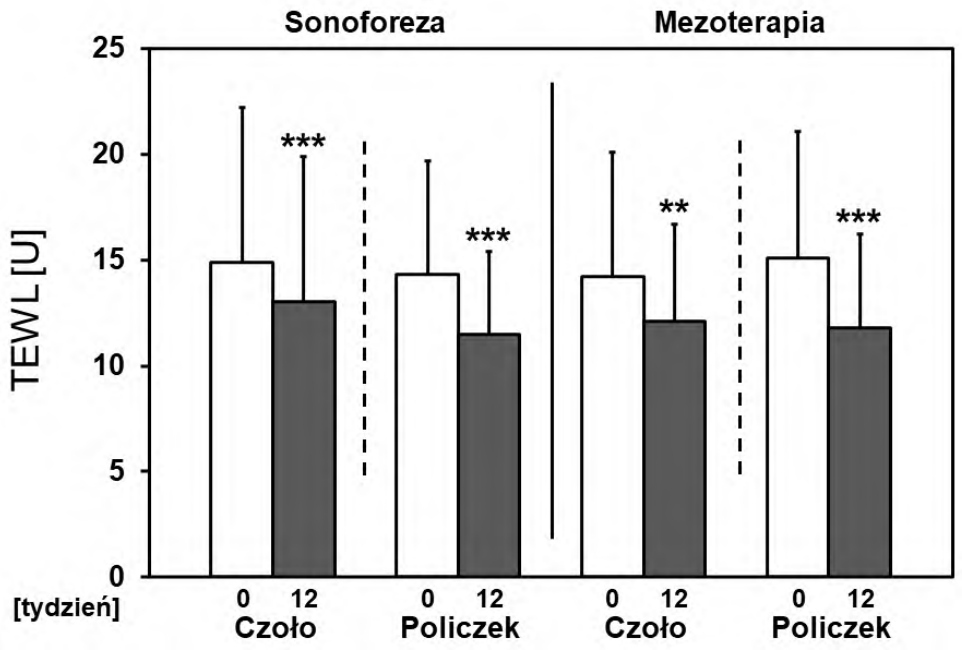
Natomiast w grupie drugiej zastosowanie badanych preparatów i obu metod aplikacji wyraźnie zmniejszyło przeznaskórkową utratę wody (TEWL) na całej twarzy (Wykres 6). Nieco lepsze wyniki wykazano po stronie prawej. Redukcja średnio o 13,9% na czole i 20,7% na policzkach po stronie prawej vs. 11,9% na czole i 19,5% po stronie lewej w porównaniu z wartością wyjściową.

W grupie trzeciej natomiast nie odnotowano istotności statystycznej oprócz prawego policzka (Tabela 8). Jednakże po analizie indywidualnej przypadków zauważono, że zarówno zastosowanie kwasu L-askorbinowego w połączeniu z mezoterapią mikroigłową jak i sonoforezą zmniejszyło u 4 osób transepidermalną utratę wody, przywracając skórze wartości 10-15 przypisane zdrowej skórze zgodnie z interpretacją wyników sondy TEWL urządzenia MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy).

Tabela 7. *Wpływ terapii na transepidermalną utratę wody w grupie I*

TEWL	**Miejsce pomiaru**	**Czas pomiaru**			**P**
		Pomiar I (*)	**Pomiar II (#)**	**Pomiar III**	
Strona lewa	Czoło	15.0 (12.0; 33.5)	14.0 (10.2; 20.0)	13.9 (10.0; 16.0)	P=0.336
	Policzek	14.0 (11.2; 19.0)	12.0 (10.0; 18.0)	12.4 (10.0; 18.0)	P=0.186
Strona prawa	Czoło	14.0 (11.0; 35.0)	12.0 (10.7; 22.3)	12.0 (10.3; 17.0)	P=0.575
	Policzek	15.0 (10.5; 20.0)	12.5 (9.5; 17.0)	11.6 (9.2; 15.0)	P=0.091

*p<0.05 vs pomiar I; #p<0.05 vs pomiar II



Wykres 6. *Wpływ terapii na transepidermalną utratę wody w grupie II*

Tabela 8. *Wpływ terapii na transepidermalną utratę wody w grupie III*

TEWL N=23	**Miejsce pomiaru**	**Czas pomiaru**		**Istotność (P)**
		Pomiar I	**Pomiar II**	
Strona lewa	Czoło	16.6±5.2	15.3±5.0	NS (P=0.179)
	Policzek	16.5±6.9	15.2±7.5	NS (P=0.058)
Strona prawa	Czoło	17.6±5.0	16.2±5.1	NS (P=0.101)
	Policzek	17.1±7.6	14.9±8.1	**P=0.002**

5.4. Elastyczność

W pracy oceniano parametry mechaniczne skóry R1, R2 i R5 pochodzące z jednego badania**.** R1 dostarcza danych na temat zdolności skóry do powrotu do stanu wyjściowego, R2 na temat elastyczności brutto, natomiast R5 na temat elastyczności netto.

W grupie pierwszej zaobserwowano, że jedynie aplikacja witaminy C w 0,5% kwasem ferulowym z zastosowaniem mezoterapii wiązała się z istotną poprawą parametru R1 tylko na prawym policzku (Tabela 9). Ponadto, połączenie aplikacji 20% witaminy C z kwasem ferulowym z mezoterapią przyniosło poprawę parametrów R2 zarówno na czole, jak i na policzkach, a parametru R5 na prawym czole i policzku. (Tabela 10 i 11).

Tabela 9. *Wpływ terapii na zmianę parametru R1 w grupie I*

R1 / Metoda Aplikacji	Miejsce pomiaru	Punkt czasowy pomiaru		
		Pomiar I (przed leczeniem)	Pomiar III (po 6, sesji)	P
Lewa strona (sonoforeza)	Czoło	0,036 (0,025; 0,049)	0,021 (0,015; 0,026)	0,161
	Policzek	0,040 (0,029; 0,060)	0,033 (0,027; 0,043)	0,092
Prawa strona (mezoterapia)	Czoło	0,031 (0,024; 0,044)	0,026 (0,019; 0,035)	0,126
	Policzek	0,044 (0,038; 0,049)	0,037 (0,030; 0,041)	**0,021**

Tabela 10. *Wpływ terapii na zmianę parametru R2 w grupie I*

R2 / Metoda Aplikacji	Miejsce pomiaru	Punkt czasowy pomiaru		
		Pomiar I (przed leczeniem)	Pomiar III (po 6, sesji)	P
Lewa strona (sonoforeza)	Czoło	0,556±0,193	0,711±0,193	**0,039**
	Policzek	0,469±0,117	0,551±0,071	**0,024**
Prawa strona (mezoterapia)	Czoło	0,534±0,223	0,628±0,182	**0,034**
	Policzek	0,477±0,125	0,596±0,113	**0,002**

Tabela 11. *Wpływ terapii na zmianę parametru R5 w grupie I*

R5 / Aplikacji	Miejsce pomiaru	Punkt czasowy pomiaru		
		Pomiar I (przed leczeniem)	Pomiar III (po 6, sesji)	P
Lewa strona (sonoforeza)	Czoło	0,319 (0,191; 0,807)	0,391 (0,302; 0,717)	0,646
	Policzek	0,320 (0,239; 0,565)	0,371 (0,292; 0,453)	0,575
Prawa strona (mezoterapia)	Czoło	0,254 (0,202; 0,347)	0,376 (0,322; 0,579)	**0,005**
	Policzek	0,319 (0,227; 0,391)	0,408 (0,364; 0,562)	**0,005**

W grupie drugiej zastosowana terapia nie przyniosła istotnej zmiany parametrów R1, R2, R5 (Tabela 12, 13, 14). Parametr R2 uległ nieistotnemu podwyższeniu po stronie prawej w porównaniu ze stroną lewą i wartością wyjściową. Parametr R5 uległ nieznacznej poprawie we wszystkich okolicach poza lewą stroną czoła w porównaniu z wartością wyjściową.

Tabela 12. *Wpływ terapii na zmianę parametru R1 w grupie II*

R1	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru		Istotność (P)
		Pomiar I	Pomiar II	
Strona lewa	Czoło	0.026 (0.015; 0.041)	0.044 (0.031; 0.049)	NS (P=0.128)
	Policzek	0.022 (0.014; 0.033)	0.029 (0.018; 0.043)	NS (P=0.237)
Strona prawa	Czoło	0.025 (0.014; 0.029)	0.017 (0.004; 0.023)	NS (P=0.612)
	Policzek	0.031 (0.014; 0.046)	0.044 (0.011; 0.049)	NS (P=0.446)

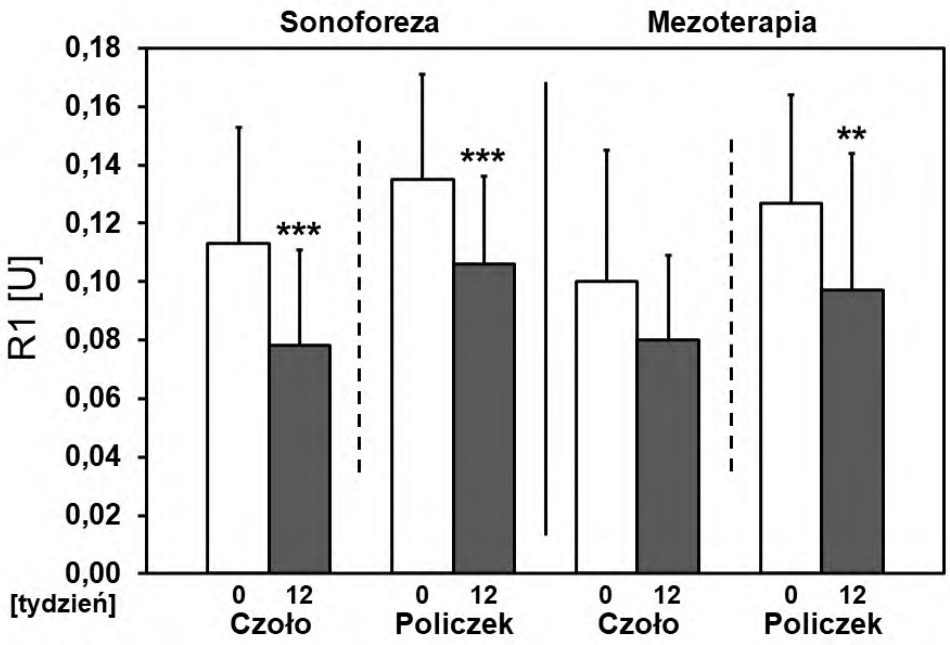
Tabela 13. *Wpływ terapii na zmianę parametru R2 w grupie II*

R2	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru		Istotność (P)
		Pomiar I	Pomiar II	
Strona lewa	Czoło	0.392 (0.346; 0.516)	0.374 (0.295; 0.538)	NS (P=0.917)
	Policzek	0.436 (0.389; 0.680)	0.491 (0.394; 0.643)	NS (P=0.612)
Strona prawa	Czoło	0.459 (0.378; 0.481)	0.632 (0.320; 0.935)	NS (P=0.128)
	Policzek	0.417 (0.323; 0.492)	0.529 (0.429; 0.660)	NS (P=0.063)

Tabela 14. *Wpływ terapii na zmianę parametru R5 w grupie II*

R5	Miejsce pomiaru	Czas pomiaru		Istotność (P)
		Pomiar I	Pomiar II	
Strona lewa	Czoło	0.184 (0.130; 0.400)	0.167 (0.111; 0.182)	NS (P=0.398)
	Policzek	0227 (0.200; 0.351)	0.229 (0.150; 0.344)	NS (P>0.999)
Strona prawa	Czoło	0.250 (0.205; 0.258)	0.281 (0.158; 0.314)	NS (P=0.866)
	Policzek	0.186 (0.116; 0.476)	0.197 (0.125; 0.376)	NS (P=0.398)

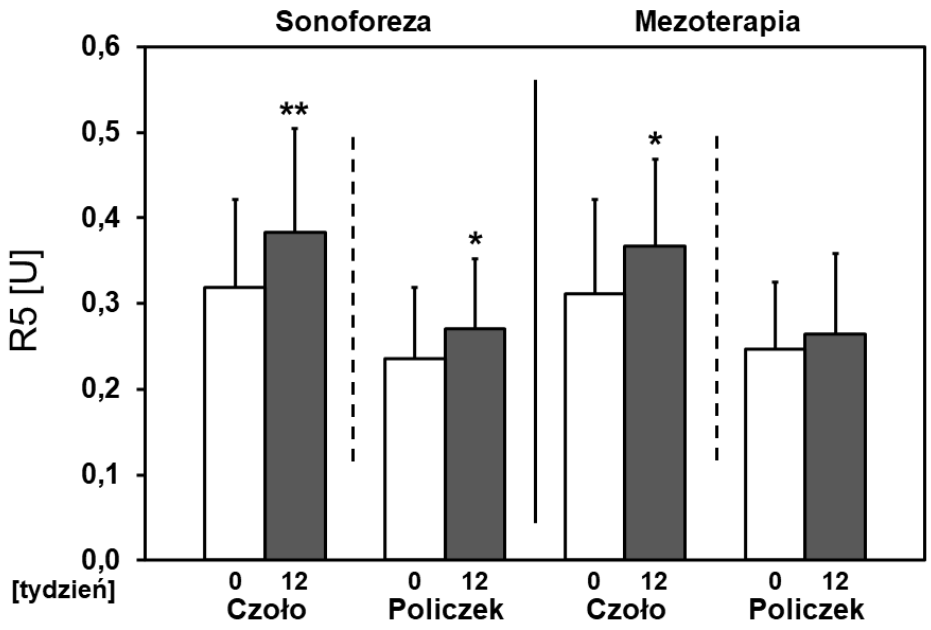
W badaniu trzeciej grupy zaobserwowano znaczącą poprawę elastyczności skóry. Po serii badań odnotowano istotny statystycznie spadek parametru R1 na czole i policzkach z wyjątkiem czoła po stronie prawej (Wykres 7) oraz znaczący wzrost parametru R5 na czole i policzkach z wyjątkiem policzka po stronie prawej (Wykres 8). Największą redukcję parametru R1 stwierdzono na obu policzkach (spadek o 25,3% po stronie lewej i o 28,2% po stronie prawej). W przypadku parametru R2 nie odnotowano istotności statystycznej (Tabela 15).



Wykres 7. *Wpływ terapii na zmianę parametru R1 w grupie III*

Tabela 15. *Wpływ terapii na zmianę parametru R2 w grupie III*

R2 N=20	**Miejsce pomiaru**	**Czas pomiaru**		**Istotność (P)**
		Pomiar I	**Pomiar II**	
Strona lewa	Czoło	0.586±0.122	0.617±0.143	NS (P=0.332)
	Policzek	0.592±0.095	0.566±0.084	NS (P=0.290)
Strona prawa	Czoło	0.578±0.188	0.611±0.149	NS (P=0.527)
	Policzek	0.608±0.116	0.593±0.165	NS (P=0.653)



*p<0.05;
**p<0.01;

Wykres 8. *Wpływ terapii na zmianę parametru R5 w grupie III*

W przypadku wszystkich parametrów statystyczne porównanie efektów uzyskanych pomiarów pomiędzy stronami nie wykazało przewagi mezoterapii mikroigłowej ani sonoforezy (Załącznik 2).

5.5. Wyniki ankiet

W każdej grupie osoby badane wypełniały ankietę, aby ocenić zaobserwowane przez siebie zmiany.

Analiza ankiet uzyskanych od osób z grupy pierwszej wykazała, że wszystkie osoby badane zaobserwowały poprawę ogólnego stanu skóry po serii zabiegów z użyciem preparatu witaminy C połączonego z 0,5% kwasem ferulowym sonoforezy oraz mezoterapii. Ponadto zaobserwowano umiarkowaną lub dobrą redukcję rumienia i rozjaśnienie skóry po obu stronach twarzy. Ponad 80% kobiet stwierdziła, że ich skóra wydaje się być bardziej elastyczna i lepiej nawilżona. Skóra większości uczestniczek w mniejszym stopniu reagowała na czynniki powodujące zaczerwienienie. Szczegółowe wyniki ankiet przedstawiono poniżej (Wykres 9).

Wykres 9. *Ocena skuteczności zabiegów w ocenie osób badanych w grupie I*

W drugiej grupie ankiety wykazały, że wszystkie uczestniczki zaobserwowały poprawę stanu skóry. Zdecydowana większość wskazała na rozjaśnienie i zmniejszenie rumienia. Ponadto u większości kobiet nastąpiło uelastycznienie skóry, zwiększenie jej gęstości i poprawa nawilżenia. Skóra stała się mniej reaktywna na zmiany, podczas wysiłku fizycznego, pod wpływem alkoholu i pikantnych potraw. Szczegółowe wyniki ankiet przedstawiono poniżej (Wykres 10).

Wykres 10. *Ocena skuteczności zabiegów w ocenie osób badanych w grupie II*

W grupie trzeciej wyniki ankiety wykazały, że wszystkie uczestniczki odnotowały zmniejszenie zmian rumieniowych, a 96% stwierdziło ogólną poprawę stanu skóry, przy zastosowani sonoforezy. Uczestniczki badania wskazały również na zwiększenie elastyczności, zwiększenie nawilżenia oraz mniejszą reaktywność pod wpływem zmiany temperatury otoczenia (Wykres 11). Po stronie twarzy, na której zastosowano sonoforezę, 92% badanych zauważyła rozjaśnienie skóry (w porównaniu z 88% po mezoterapii). Obie terapie porównywalnie poprawiały w opinii uczestniczek badania gęstość skóry (u 84% osób). Terapia w opinii uczestniczek okazała się być bardzo skuteczna w redukcji reaktywności skóry pod wpływem wysiłku fizycznego i ostrych potraw, stresu oraz alkoholu. Szczegółowe wyniki ankiet przedstawiono poniżej (Wykres 11).

Wykres 11. *Ocena skuteczności zabiegów w ocenie osób badanych w grupie III*

5.5. Fotograficzne udokumentowanie badań

Grupa I

Zdjęcie 3. *Efekt terapii w grupie I.*
Kobieta lat 54, widoczna redukcja rumienia na czole i lewym policzku (sonoforeza), wyrównanie kolorytu, ogólna poprawa stanu skóry.

Zdjęcie 4. *Efekt terapii w grupie I.*
Kobieta lat 43, widoczna znacząca redukcja rumienia, wygładzenie zmarszczek na czole, rozjaśnienie oraz ogólna poprawa wyglądu skóry.

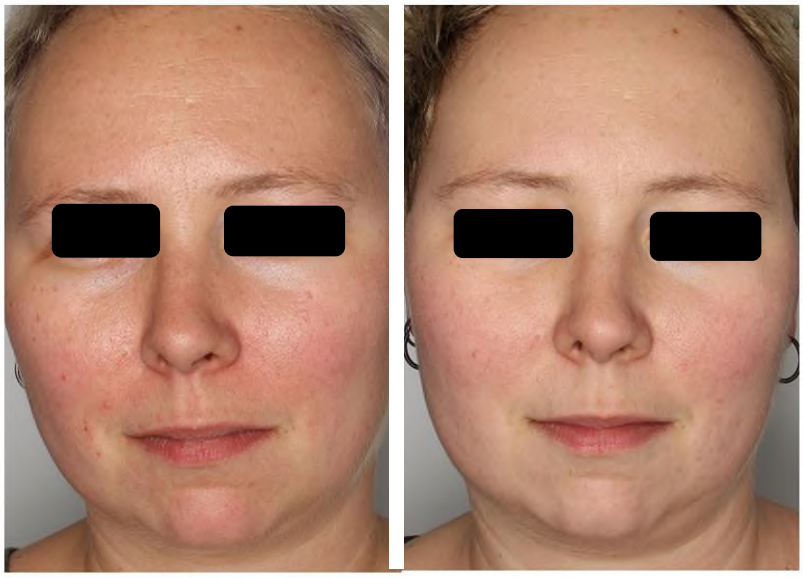
Zdjęcie 5. *Efekt terapii w grupie I.*

Kobieta lat 56, widoczna redukcja rumienia na prawym policzku (mezoterapia mikroigłowa), rozjaśnienie, spłycenie zmarszczek oraz ogólna poprawa stanu skóry.

Grupa II

Zdjęcie 6. *Efekt terapii w grupie II.*

Kobieta lat 53, widoczna ogólna poprawa stanu skóry, redukcja głębokości zmarszczek w okolicy oka i na czole oraz redukcja przebarwień i wyrównanie kolorytu.

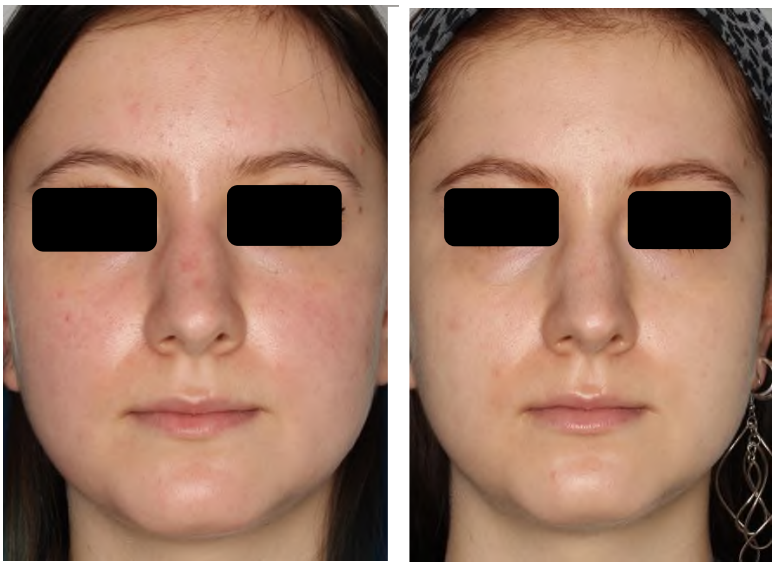


Zdjęcie 7. *Efekt terapii w grupie II.*

Kobieta lat 35, widoczna redukcja rumienia, rozjaśnienie skóry, wygładzenie drobnych zmarszczek na czole oraz ogólna poprawa stanu skóry.

Zdjęcie 8. *Efekt terapii w grupie II.*

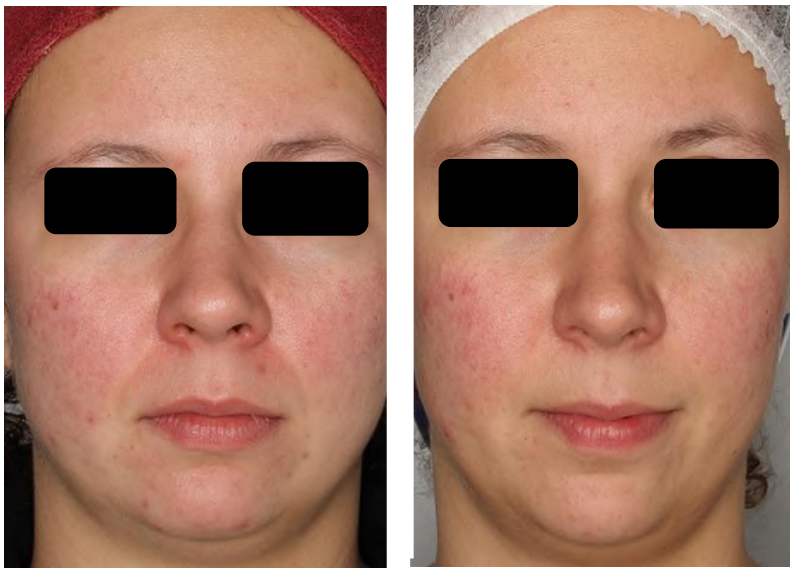
Kobieta lat 45,widoczne wyrównanie kolorytu, spłycenie zmarszczek na czole, rozjaśnienie skóry oraz ogólna poprawa wyglądu skóry.



Zdjęcie 9. *Efekt terapii w grupie II.*

Kobieta lat 18,widoczna redukcja zmian rumieniowych, wyrównanie kolorytu oraz ogólna poprawa stanu skóry.

Grupa III

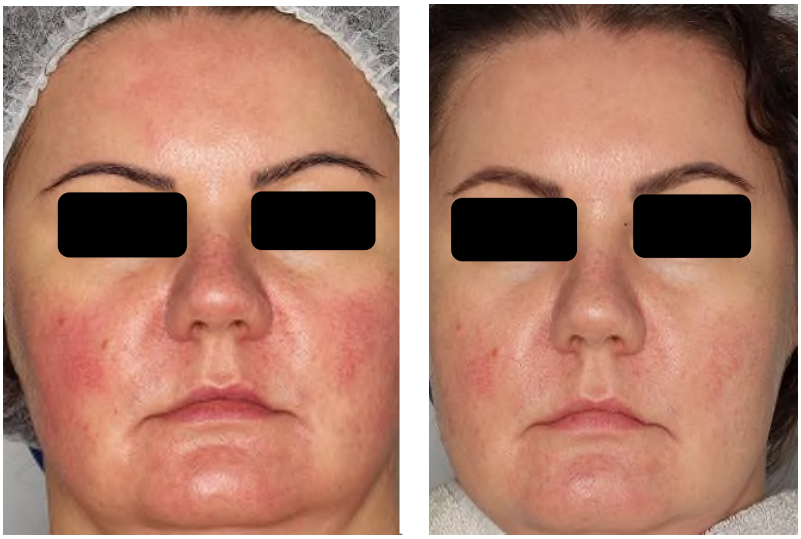


Zdjęcie 10. *Efekt terapii w grupie II.*

Kobieta lat 29,widoczna redukcja rumienia oraz ogólna poprawa stanu skóry.

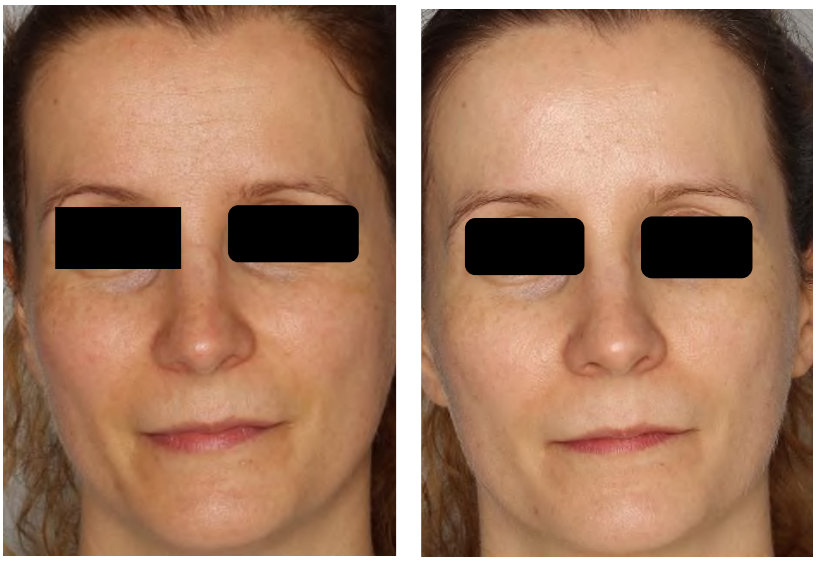
Zdjęcie 11. *Efekt terapii w grupie III.*

Kobieta lat 54, widoczne wyrównanie kolorytu, zmniejszenie przebarwień oraz ogólna poprawa wyglądu skóry.



Zdjęcie 12. *Efekt terapii grupie III.*

Kobieta lat 37, widoczna duża redukcja zmian rumieniowych, wyrównanie struktury oraz ogólna poprawa wyglądu skóry.

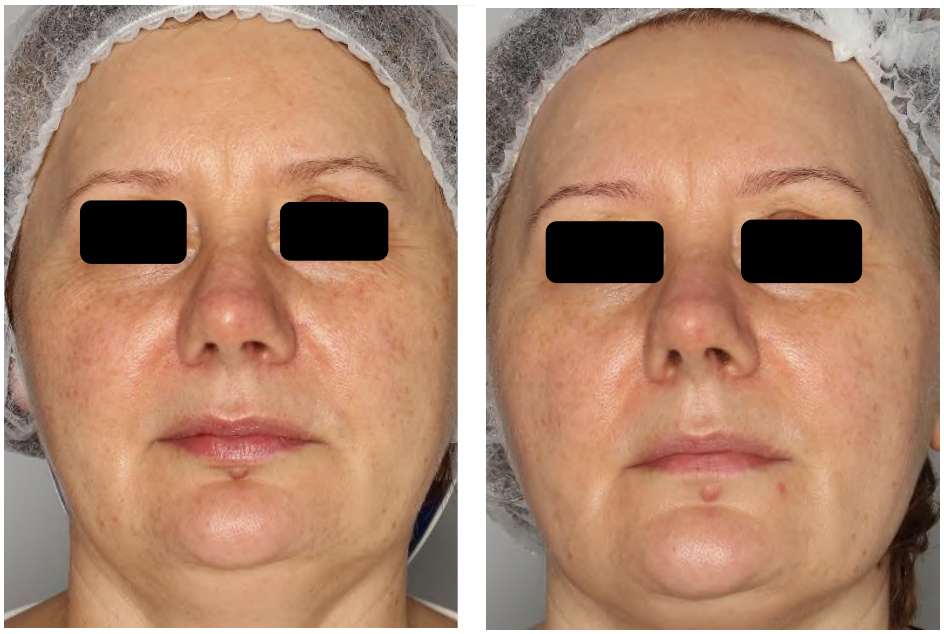


Zdjęcie 13. *Efekt terapii w grupie III.*

Kobieta lat 37, widoczne rozjaśnienie skóry, wyrównanie kolorytu, redukcja zmarszczek na czole oraz ogólna poprawa stanu skóry.

Zdjęcie 14. *Efekt terapii w grupie III.*

Kobieta lat 37,wioczna redukcja rumienia na prawym policzku (mezoterapia mikroigłowa), rozjaśnienie oraz ogólna poprawa stanu skóry.



Zdjęcie 15. *Efekt terapii w grupie III.*

Kobieta lat 56, widoczne wyrównanie kolorytu oraz ogólna poprawa stanu skóry.

Zdjęcie 16. *Efekt terapii w grupie III.*

Kobieta lat 50, widoczne rozjaśnienie skóry na lewym policzku (sonoforeza) oraz ogólna poprawa stanu skóry.

5.6. Skutki uboczne

Wszystkie terapie były bardzo dobrze tolerowane przez grupę badaną.

W grupie pierwszej niespełna 30% uczestników (sonoforeza) i 72% uczestników (mezoterapia) zauważyło krótkotrwałe podrażnienie i zaczerwienienie skóry, które ustępowało po kilku lub kilkunastu minutach.

W grupie drugiej tylko 14% osób badanych zgłaszało podrażnienie skóry po stronie lewej (sonoforeza), natomiast 18% osób badanych odnotowało podrażnienie skóry po stronie prawej (mezoterapia), jednak efekt ten ustąpił po kilkudziesięciu minutach po terapii.

W grupie trzeciej podrażnienie skóry bezpośrednio po zabiegu zaobserwowała połowa uczestniczek (48% po sonoforezie, 52% po mezoterapii). Jednakże u większości kobiet reakcje te znikały w ciągu kilkunastu minut, u mniejszości efekt ten utrzymywał się kilka godzin.

VI. DYSKUSJA

W niniejszej pracy własnej oceniano wpływ czystego kwasu L-askobinowego, kwasu L-askorbinowego w połączeniu z kwasem ferulowym oraz kwasu L-askorbinowego stosowanego łącznie z kwasem ferulowym i floretyną na wybrane parametry skóry twarzy, m.in. rumień, pigmentację, nawilżenie, TEWL i elastyczność. Wszystkie zakwalifikowane osoby do badania miały skórę rumieniową, a w grupie trzeciej dodatkowo wrażliwą.

Ze względu na niestabilność i działanie drażniące witaminy C na skórę, preparaty podawano albo z wymienionymi powyżej substancjami, które ją stabilizują (preparat I i II) albo w czystej postaci roztworu do iniekcji (preparat III). Ze względu na fakt, iż kwas L-askorbinowy jest hydrofilową cząsteczką, jego penetracja w głąb skóry przez hydrofobową warstwę rogową jest utrudniona. Z tego powodu w badaniu własnym zastosowano zabiegi kosmetologiczne pozwalające na wprowadzanie go w głębsze warstwy skóry (mezoterapia mikroigłowa i sonoforeza). Ponadto poprawę penetracji kwasu L-askorbinowego w głębsze warstwy skóry można osiągnąć stosując preparaty wodne zawierające kwas L-askorbinowy o pH niższym od jego pKa (4,2) [98]. Dlatego też pH wykorzystanego w niniejszym badaniu kwasu L-askorbinowego w grupie I i II wynosiło 3,0 natomiast preparat w grupie III był roztworem do iniekcji.

Badanie zaprojektowano w taki sposób, aby umożliwić ocenę wpływu obu tych technik na efekty działania stosowanych zewnętrznie substancji oraz porównać ilość działań niepożądanych występujących po mezoterapii mikroigłowej (0,2 mm) oraz sonoforezie (obie techniki stosowano u tej samej osoby odpowiednio po prawej stronie mezoterapia mikroigłowa, a po lewej stronie sonoforeza). Dodatkowo badanie dało możliwość oceny skuteczności działania różnych stężeń witaminy C oraz sprawdzenia czy dodatkowe zastosowanie innych substancji czynnych do produktów z witaminą C mają wpływ na jej działanie.

Celem niniejszej pracy była ocena czy preparat na bazie kwasu L-askorbinowego stosowany u osób ze skórą wrażliwą, skłonną do rumienia zredukuje w znacznym stopniu zaczerwienienie i nadwrażliwość, nie powodując przy tym silnych reakcji niepożądanych.

W przeprowadzonym badaniu własnym wykazano, że każdy z badanych preparatów spowodował istotną statystycznie redukcję rumienia wśród badanych osób. Dodatkowo

badane osoby w ankietach wskazały na ogólną poprawę stanu skóry, rozjaśnienie skóry, zwiększenie elastyczności i gęstości oraz wzrost nawilżenia, czyli zmniejszenie oznak starzenia. W związku z tym, że każdy badany preparat oparty był na witaminie C w postaci kwasu L-askorbinowego można stwierdzić, że to właśnie ta substancja odpowiada za efekt redukcji rumienia oraz działania antiaging. Substancje dodatkowe modyfikowały tylko określone właściwości. Takie działanie kwasu L-askorbinowego wiązane jest z faktem, że jest to najbardziej aktywna biologicznie forma witaminy C niezbędna dla utrzymania prawidłowej struktury i funkcjonowania skóry [99-101]. Dlatego też to właśnie w badaniu własnym zdecydowano się na wybranie tej postaci witaminy C.

Fakt, że witamina C okazała się tak skutecznym preparatem w redukcji zmian rumieniowych ma związek z szeregiem jej właściwości opisanych poniżej.

Często pojawienie się rumienia na twarzy (zarówno napadowego jak i utrwalonego) związane jest z ekspozycją słoneczną. Promieniowanie UV powoduje powstanie w skórze dużej liczby wolnych rodników, a co za tym idzie stresu oksydacyjnego, dlatego też bardzo ważne stają się antyoksydacyjne właściwości witaminy C. Kwas L-askorbinowy chroni skórę przed stresem oksydacyjnym ze względu na zdolność sekwencyjnego oddawania elektronów neutralizujących wolne rodniki [98].

W badaniu własnym w preparacie I i II witamina C została połączona z innymi antyoksydantami, odpowiednio w preparacie I z 0,5% kwasem ferulowym oraz w preparacie II z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną co wzmocniło właściwości przeciwrumieniowe i spowodowało większy stopień redukcji rumienia w porównaniu z preparatem III, gdzie zastosowano samą witaminę C. Również inni badacze zauważyli, że działanie przeciwutleniające witaminy C może ulec wzmocnieniu, gdy zostanie ona połączona z innymi przeciwutleniaczami o różnych potencjałach redoks, takimi jak α-tokoferol [102-,103]. Połączenie kwasu L-askorbinowego z innymi witaminami, produktami naturalnymi lub peptydami o różnych mechanizmach działania synergistycznie chroni komórki przed stresem oksydacyjnym, nasila syntezę kolagenu i opóźnia starzenie się skóry [104-109].

Zmiany rumieniowe związane są również z uszkodzeniem kolagenu, który buduje naczynia krwionośne. Dlatego też istotny jest fakt, że antyoksydacyjne działania kwasu L-askorbinowego może przyczyniać się bezpośrednio lub pośrednio do ograniczenia rozpadu kolagenu, a co za tym idzie do wzmocnienia ścian naczyń krwionośnych. Wyniki badań wskazują, iż witamina C osłabia ekspresję metaloproteinaz 1 i 2 (MMP-1 i -2)

indukowaną przez UV-A [110]. Metaloproteinazy-MMP (ang. *matrix metalloproteinases*) to endopeptydazy biorące udział w degradacji kolagenu i innych składników macierzy pozakomórkowej, których aktywność MMP zwiększa się w starzejącej się skórze [111-114]. Reaktywne formy tlenu (RFT) działając poprzez białko aktywator-1 i jądrowy czynnik transkrypcyjny (NF-κB) nasilają ekspresję metaloproteinaz w keratynocytach naskórka i fibroblastach skóry wystawionych na działanie czynników środowiskowych, takich jak promieniowanie UV [115,116].

W badaniu własnym przeważająca część osób badanych w ankiecie wstępnej wskazała ekspozycję słoneczną oraz promieniowanie UV jako czynnik wywołujący lub zaostrzający rumień. Z badań wynika, iż promieniowanie UV może nasilać ekspresję cytokin zapalnych IL-1α, IL-6 i TNF-α, co wywołuje stan zapalny w komórkach skóry. Ponadto, wykazano, iż IL-1α może brać udział w degradacji kolagenu w skórze właściwej przyczyniając się do fotostarzenia skóry [117]. Stan zapalny może promować powstawanie wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu [118]. Zapalenie i nadmierne wytwarzanie RFT- reaktywnych form tlenu uważane są za czynniki leżące u podstaw starzenia chronologicznego i fotostarzenia, którego elementem są zmiany rumieniowe. Indukowane promieniowaniem ultrafioletowym MMP-2 i -9 są odpowiedzialne za uszkodzenia błony podstawnej skóry. Uważa się, że działanie kwasu L-askorbinowego hamujące ekspresję MMP-metaloproteinaz jest związane z jego aktywnością przeciwutleniającą i przeciwzapalną [119].

Jak już wcześniej zostało wspomniane rumień związany jest mechaniczną odpornością ścian naczyń włosowatych. Dlatego też kluczowy jest fakt, że kwas L-askorbinowy bierze także udział w syntezie kolagenu na wielu etapach, m.in. na etapie transkrypcji genów i na etapie modyfikacji potranslacyjnej, jednakże nie ma bezpośredniego wpływu na proces translacji. Może on bezpośrednio aktywować czynniki transkrypcyjne, które kontrolują ekspresję genów kolagenu, wpływając na procesy transdukcji sygnału komórkowego [120]. Po pierwsze, kwas ten stanowi niezbędny kofaktor hydroksylazy prolinowej i lizynowej. Odgrywa on kluczową rolę w dojrzewaniu kolagenu na etapie posttranslacyjnym. Wykazano, iż kwas L-askorbinowy stymuluje transkrypcję genów prokolagenu I i III w komórkach selektywnie zwiększając syntezę białek kolagenowych bez nasilania syntezy białek niekolagenowych w hodowlach ludzkich fibroblastów [121-124]. Alternatywnie, może on nasilać ekspresję TGF-β1 i aktywować transdukcję sygnału, aby ostatecznie zwiększać ekspresję genów kolagenu. Z badań wynika, iż jego poziom w komórkach skóry jest ściśle związany z ilościową

i strukturalną integralnością kolagenu skórnego. Niedobór przekłada się na starzenie się skóry [125-127].

Pinnel i wsp. [124] wysunęli hipotezę, że nagromadzenie prokolagenu w komórce hamuje procesy translacji prokolagenu, natomiast kwas L-askorbinowy niweluje tę blokadę poprzez promowanie hydroksylacji i sekrecji prokolagenu, co skutkuje zwiększoną transkrypcją genu kolagenu. Badania te są spójne z naszymi wynikami, gdzie osoby badane oprócz redukcji rumienia oraz w przypadku grupy III także reaktywności skóry zaobserwowały zmniejszenie oznak starzenia się skóry.

W niniejszym badaniu nie zauważono znaczącej różnicy między efektywnością terapii przeprowadzonych za pomocą sonoforezy czy mezoterapii mikroigłowej (0,2mm). Prawdopodobnie wynika to z faktu, że zarówno jedna jak i druga metoda ma możliwość zwiększenia penetracji substancji aktywnej. Z piśmiennictwa wynika, że mezoterapia mikroigłowa stymuluje również regenerację włókien kolagenowych i elastynowych [108,127], w badaniu własnym po tej metodzie nie wykazano lepszej poprawy elastyczności skóry niż przy zastosowaniu sonoforezy. Prawdopodobnie związane jest to z użyciem zbyt płytkich nakłuć, które nie miały wpływu na proces produkcji kolagenu a ich funkcja ograniczyła się jedynie do zwiększania wnikania kwasu L-askorbinowego oraz innych substancji przez warstwę rogową naskórka. Z kolei, w przypadku sonoforezy to fale ultradźwiękowe, a nie mikroigły zwiększając przepuszczalność komórek i energię kinetyczną cząstek substancji aktywnej poprawiają ich przenikanie w głąb skóry poprzez warstwę rogową [109].

6.1. Redukcja rumienia i hiperpigmentacji

Jak opisano powyżej redukcja rumienia nastąpiła we wszystkich grupach. Dokonano również porównania stopnia redukcji rumienia pomiędzy grupami. Optymalne stężenie kwasu L-askorbinowego jest kluczowe w celu uzyskiwania dobrych efektów terapeutycznych. Uważa się, że w większości przypadków, pożądaną biologiczną aktywność uzyskuje się przy stężeniach kwasu L-askorbinowego powyżej 8% [128]. Badania wykazały, że zastosowanie stężeń wyższych niż 20% nie zwiększa efektywności działania, lecz przeciwnie może powodować podrażnienia skóry [129]. Z tego powodu w niniejszym badaniu zastosowano witaminę C w stężeniach 10% i 20%. W badaniu własnym, stosowanie preparatów witaminy C, niezależnie od formy jej podania i stężenia, w każdej z grup badanych redukowało rumień. Największy stopień zmniejszenia

rumienia odnotowano u kobiet, u których zastosowano preparat zawierający 20% kwas L-askorbinowy w połączeniu z 0,5% kwasem ferulowym.

Kwas ferulowy wydaje się nasilać działanie witaminy C, która stymulując produkcję kolagenu pośrednio przyczynia się do uszczelniania naczyń, które dzięki kolagenowi zachowują elastyczność, co z kolei wpływa na prawidłowe krążenie krwi. Również inne badania potwierdziły pozytywny wpływ kwasu L-askorbinowego na utrzymanie mechanicznej odporności ścian naczyń włosowatych i szczelność ich struktury [130,131].

Dobry efekt redukcji rumienia zaobserwowano także w dwóch pozostałych grupach, w których stosowany był 10% kwas L-askorbinowy w połączeniu z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną (grupa II), gdzie odnotowano spadek rumienia na lewym policzku o średnio 27,2%, a na prawym o średnio 24,9% oraz czysta apteczna forma witaminy C podawana za pomocą mezoterapii lub sonoforezy (grupa III), gdzie rumień zmniejszył się na lewym policzku o średnio 19,3%, a na prawym o średnio 23,5%. Natomiast największą poprawę odnotowano w grupie I, gdzie redukcja rumienia była średnio na poziomie aż 35,2% na lewym policzku oraz średnio 34,9% na prawym policzku. Taki wynik potwierdza dodatkowo wcześniej dyskutowaną tezę, że to właśnie kwas L-askorbinowy odpowiada za przeciwrumieniowe właściwości badanych preparatów. Aczkolwiek wynik ten wysuwa pod dyskusję stwierdzenie, że to właśnie 20% zawartość kwasu L-askorbinowego stanowi optymalne stężenie witaminy C oraz że warto jest łączyć ją z kwasem ferulowym w celu uzyskania maksymalnych rezultatów w redukcji rumienia. Badania własne potwierdzają inne badania pokazujące, że połączenie witaminy C w stężeniu 15% z 0,5% kwasem ferulowym aż ośmiokrotnie zwiększa skuteczność działania witaminy C [132], co tłumaczy tak dobrą redukcję rumienia i działania antiaging w preparatch I - witamina C 20% i II - witamina C 10%w połączeniu z 0,5% kwasem ferulowym, przy czym preparat II dodatkowo połączny był jeszcze z 2% floretyną.

Dodatkowo, poza zmniejszeniem zaczerwienia, kobiety uczestniczące w badaniu zauważyły także znaczące osłabienie reaktywności skóry na czynniki, które wcześniej powodowały zaostrzenie rumienia. Uzyskanie dobrych efektów terapeutycznych w grupie badanej, u której zastosowano połączenie mezoterapii mikroigłowej i substancji aktywnej (kwas L-askorbinowy) jest zgodne z wynikami innych badań i potwierdza efektywność tej metody dostarczania substancji czynnej w głąb skóry [133]. Jednakże, jak wykazano w niniejszym badaniu, a także w badaniach innych naukowców również miejscowe stosowanie witaminy C skutecznie obniża wskaźnik rumieniowy

i zaczerwienienie blizn pooperacyjnych [134,135]. Ames i wsp. [136] wskazują, iż miejscowa aplikacja witaminy C łagodzi stan zapalny skóry wywołany przez RFT w indukowanym promieniowaniem UV rumieniu. Efekt ten może wiązać się z blokowaniem przez kwas L-askorbinowy NF-κB, a w konsekwencji z redukcją aktywacji niektórych cytokin prozapalnych, m.in. TNF-α, IL1, IL6 i IL8 [132]. Lin i wsp. [137] zaobserwowali, że stosowanie stabilnego 15% wodnego roztworu kwasu L-askorbinowego pozwala na efektywną ochronę przed powstawaniem rumienia indukowanego promieniowaniem UV. Działanie ochronne zachodzi poprzez neutralizowanie reaktywnych form tlenu [138].

Witamina C wpływa korzystnie nie tylko na mikrocyrkulację krwi osłabiając widoczność rumienia, ale też na działanie przeciwpigmentacyjne. Witamina C wykazuje również działanie hamujące melanogenezę, przez co może być wykorzystywana do redukcji przebarwień skóry. Jak wspomniano na początku dyskusji, kwas L-askorbinowy wstrzymuje aktywność tyrozynazy ograniczając powstawanie melaniny [99,139].

W badaniu własnym odnotowano istotną statystycznie redukcję zmian pigmentacyjnych tylko w trzeciej grupie, co może wynikać z faktu, iż w pozostałych grupach osoby badane nie miały poważnych problemów z hiperpigmentacją. Jednakże, na podstawie zdjęć będących dokumentacją fotograficzną zachodzących zmian w wyglądzie skóry, stwierdzono rozjaśnienie i wyrównanie kolorytu skóry po zastosowaniu witaminy C we wszystkich grupach. Kwas L-askorbinowy redukuje nasilenie zmian pigmentacyjnych, które mogą się pojawiać na starzejącej się skórze. Działanie to jest związane z hamowaniem tyrozynazy poprzez oddziaływanie z jonami miedzi w miejscu aktywnym enzymu. Tyrozynaza odpowiada za przekształcanie tyrozyny w melaninę, dlatego też jej hamowanie zmniejsza ilość powstającej melaniny [102].

Również floretyna blokuje aktywność tyrozynazy w ludzkich melanocytach i z tego powodu może być stosowana w preparatach rozjaśniających dla osób z zaburzeniami pigmentacji. W innym badaniu, Xu i wsp. [140] zaobserwowali, że miejscowe stosowanie 23,8% kwasu L-askorbinowego w połączeniu z jonoforezą prowadzi do rozjaśnienia kolorytu skóry po dwóch tygodniach terapii. Dodatkowo, w badaniu klinicznym oceniającym efekty miejscowego stosowania 25% kwasu L-askorbinowego wraz z chemicznym wzmacniaczem penetracji (Dimethyl Isosorbide) wykazano znaczną redukcję nasilenia pigmentacji po 16 tygodniach terapii [141].

W celu zwiększenia stabilności kwasu L-askorbinowego, jego preparaty muszą posiadać niskie pH, należy unikać ich ekspozycji na światło słoneczne, mogą także

dodatkowo zawierać kwas ferulowy. Poza działaniem stabilizującym, kwas ferulowy ma zdolność zmiatania wolnych rodników, a także posiada aktywność przeciwzapalną, przeciwzmarszczkową i przeciwstarzeniową. Co więcej, hamując ekspresję tyrozynazy rozjaśnia on pigmentację [142-144]. Podobnie, jak kwas ferulowy, również floretyna wykazuje działanie antyoksydacyjne, przeciwstarzeniowe i zmniejszające pigmentację. Ponadto floretyna blokuje aktywność elastazy i MMP-1, a także ogranicza aktywność tyrozynazy i zawartość melaniny [145].

6.2. Nawilżenie skóry i TEWL

W przedstawianym badaniu własnym najlepsze efekty uzyskano w grupie drugiej przy użyciu 10% kwasu L-askorbinowego połaczonego z 0,5% kwaseem ferulowym oraz 2% floretyną, gdzie zanotowano istotnie statystyczną poprawę nawilżenia na policzkach, a w przypadku transepidermalnej utraty wody na policzkach oraz na czole. Może wynikać to z faktu, że wyjściowo skóra w tych obszarach była najbardziej sucha.

Natomiast w grupie trzeciej, gdzie użyto roztworu iniekcyjnego zawierającego 500 mg kwasu L-askorbinowego (100mg/ml; TEVA) istotną statystycznie poprawę odnotowano w przypadku nawilżenia na lewym policzku (sonoforeza), a w przypadku transepidermalnej utraty wody na prawym policzku (mezoterapia mikroigłowa). W pozostałych obszarach oraz w grupie pierwszej nie odnotowano istotnej statystycznie poprawy. Może to wynika z faktu, że badane osoby wyjściowo miały dobre wyniki nawilżenia oraz transepidermalnej utraty wody.

W badaniach ankietowych największą poprawę nawilżenia odnotowano w grupie trzeciej, gdzie aż 96% zauważyło poprawę zarówno po sonoforezie jak i po mezoterapii mikroigłowej.

Stosowanie 10% kwasu L-askorbinowego w połączeniu z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną skutkowało wyraźnie zmniejszoną przeznaskórkową utratą wody (TEWL) na całej twarzy oraz nawilżenia na policzkach. Poprawa TEWL i nawilżenia może być wynikiem przeciwzapalnego działania floretyny. Skóry z rumieniem często mają uszkodzony płaszcz hydrolipidowy, co predysponuje do powstania stanu zapalnego. Zastosowanie floretyny redukuje stan zapalny tym samym pozwalając skórze na odbudowę płaszcza hydrolipidowego czego odzwierciedleniem jest poprawa TEWL oraz wzrost nawilżenia. W wielu innych badaniach nie zauważano istotnej poprawy nawilżenia skóry ani TEWL, co przypisywano złuszczaniem komórek naskórka pod

wpływem kwasowości kwasu L-askorbinowego i następową utratą nawilżenia powierzchni skóry [104,140]. W badaniu własnym, przypuszczalnie dostarczanie substancji aktywnej w głąb skóry pozwoliło uniknąć tego efektu. Różnice w nawilżeniu obu stron twarzy mogą być związane z faktem, iż również sama mezoterapia przyczynia się do zwiększenia poziomu nawilżenia skóry, czego nie można powiedzieć o sonoforezie [146]. Odmienne wyniki uzyskano w badaniu, w którym oceniano efekty zastosowania na skórę przedramienia kwasu L-askorbinowego oraz jego pochodnych (fosforanu askorbylu magnezu (MAP) oraz tetraizopalmitynianu askorbylu (ATIP)). Po 4 tygodniach stosowania, wszystkie preparaty okazały się zwiększać poziom nawilżenia warstwy rogowej naskórka, jednakże wyłącznie kwas L-askorbinowy, który był również stosowany w badaniu własnym, poprawiał wartości TEWL [147]. W innym badaniu prowadzonym na liniach komórkowych wykazano, że podawanie witaminy C poprawia barierę lipidową i stymuluje różnicowanie keratynocytów, a tym samym może przyczyniać się do pogrubienia warstwy rogowej naskórka, zapewnienia integralności bariery skórnej i skutkować poprawą retencji uwodnienia [125,148]. Wyniki te mogą wskazywać, iż na obserwowane efekty działania kwasu L-askorbinowego może znacznie wpływać miejsce i zastosowana technika aplikacji.

6.3. Parametry mechaniczne skóry (R1, R2 i R5)

W ramach niniejszej pracy, oceniono także wpływ witaminy C na elastyczność skóry, badając parametry R1, R2 oraz R5, gdzie R1 opisuje zdolność powrotu skóry do pierwotnego stanu, R2 - stosunek całkowitej elastyczności skóry do całkowitego rozciągnięcia, a R5 - oznacza elastyczność netto.

W pierwszej grupie badanej, połączenie witaminy C z jej aplikacją za pomocą mezoterapii wiązało się z poprawą parametru R1. Ponadto, połączenie aplikacji 20% witaminy C z kwasem ferulowym i z mezoterapią przyniosło poprawę elastyczności brutto (R2) i elastyczność netto (R5), zarówno na czole, jak i na policzkach. Zastosowanie sonoforezy do podawania badanego preparatu okazało się skuteczne w poprawie ogólnej elastyczności zarówno na policzkach, jak i na czole. Również, w badaniu trzeciej grupy zaobserwowano znaczącą poprawę elastyczności skóry (istotny statystycznie spadek parametru R1 na czole i policzkach oraz znaczący wzrost parametru R5 na czole i policzkach). Natomiast w przypadku grupy drugiej, gdzie zastosowano 10% kwas L-askorbinowy, 0,5% kwas ferulowy oraz 2% floretynę nie odnotowano poprawy

elastyczności w pomiarach aparaturowych, aczkolwiek badane kobiety wskazywały w ankietach na poprawę elastyczności.

Wpływ badanych preparatów na poprawę elastyczności skóry związany jest z właściwością witaminy C do ograniczania biosyntezy nieprawidłowych mas elastynowych. Jednym z kluczowych elementów fotostarzenia jest elastoza polegająca na zesztywnieniu włókien elastynowych. Do zjawiska tego dochodzi głównie pod wpływem promieniowania UV, które powodują nadprodukcję włókien sprężystych, które później ulegają uszkodzeniu. Zniszczone włókna elastynowe kumulują się i powodują spadek elastyczności skóry. Badania wykazały, że miejscowe aplikowanie witaminy C powoduje zmniejszenie stabilności i represji transkrypcji genu elastyny [149,150].

Dodatkowo ze względu na rolę kwasu L-askorbinowego w syntezie i przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej skóry został on uznany za cenny związek przeciwdziałający oznakom starzenia [108,151]. Jego działania obejmują wzmocnienie włókien kolagenowych, utrzymanie odpowiedniej gęstości kolagenu w skórze właściwej oraz stymulowanie neosyntezy [152-154]. Biorąc pod uwagę powyższe fakty, poprawa elastyczności skóry w badaniu własnym nie jest zaskakująca. Nie tylko obiektywna ocena za pomocą urządzeń, ale także subiektywne oceny uczestniczek badania wskazywały na poprawę elastyczności skóry.

Zastanawiający natomiast jest fakt, dlaczego nie uzyskano poprawy elastyczności w badanaich aparaturowych w preparacie II (10% kwas L-askorbinowy, 0,5% kwas ferulowy, 2% floretyna). Nie można wykluczyć, że przyczyną tego faktu była zbyt mała liczebność grupy aby uzyskać istotną statystycznie różnicę w pomiarach Cutometrem. Jednocześnie podobne rezultaty do wyników własnych w grupie I i III uzyskali Crisan i wsp. [108], gdzie stosowanie witaminy C istotnie poprawiło strukturę skóry, stymulowało odbudowę ubytków kolagenu śródmiąższowego. W kolejnym podwójnie zaślepionym randomizowanym badaniu udowodniono wpływ lokalnej aplikacji kwasu L-askorbinowego na poziom kolagenu oraz elastyny. W badaniu klinicznym, w którym miejscowe nakładanie przez 6 miesięcy kremu zawierającego 5% witaminę C na grzbietową stronę przedramienia kobiet w wieku 51-59 wykazało istotny wzrost gęstości mikrorzeźby skóry i zmniejszenie głębokich bruzd. Badacze sugerują, że przedłużona terapia miejscowym kwasem L-askorbinowym może powodować aktywację skórnej syntezy włókien elastycznych [155].

6.4. Działanie przeciw fotostarzeniowe

Biorąc pod uwagę fakt, że rumień jest często jednym z oznak skóry uszkodzonej przez promieniowanie UV i często towarzyszy innym objawom fotostarzenia można przyjąć, że badanie umożliwiło ocenę skuteczności badanych preparatów w terapiach skór fotouszkodzonych. Nadmierna ekspozycja na promieniowanie UV powoduje powstanie na skórze przebarwień, rumienia, teleangiektazji, zmarszczek oraz bruzd, a także wzmożoną suchość i utratę elastyczności skóry.

W badaniu własnym oceniano jak pod wpływem przeprowadzonych terapii zmienia się rumień, pigmentacja skóry, poziom nawilżenia i transepidermalnej utraty wody oraz elastyczność. Przez co można przyjąć, że oceniano stopień zmniejszenia fotostarzenia skóry pod wpływem zastosowanych terapii.

Fotostarzenie to problem złożony i obejmujący wiele aspektów. Badanie własne pokazało, że zastosowane preparaty są skuteczne w niwelowaniu wielu problemów skórnych w tym rumienia, przebarwień, suchości czy utraty elastycznosci, stanowiąc tym samym dobrą odpowiedź na problem jakim jest fotostarzenie.

Bazą wszytskich badanych preparatów była witamina C w postaci kwasu L-askorbinowego, którego właściwości przeciwrumieniowe oraz antiaging zostały omówione wcześniej. Nie mniej jednak na skuteczność preparatów w badaniu I i II miały również wpływ dodatki w postaci kwasu ferulowego i floretyny. Z punktu widzenia skuteczności terapii w zakresie fotostrzenia kluczowy jest również czas trwania badania, ilość przeprowadzonych zabiegów oraz zastosowanie odpowiednich technik wspomagających przenikanie substancj aktywnych.

Istnieją liczne doniesienia wskazujące na to, iż miejscowe stosowanie kwasu L-askorbinowego łagodzi objawy starzenia się skóry. Wyniki badań własnych, jak i innych autorów sugerują, że miejscowe stosowanie kwasu L-askorbinowego może pomóc złagodzić objawy starzenia się skóry. We wszystkich grupach badanych odnotowano korzystne działanie zastosowanych preparatów na oznaki starzenia, co udokumentowano zdjęciami i ankietami, a w grupie I i III również poprzez badanie cutometrem. Podobnie, w podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo badaniu, miejscowa aplikacja 10% witaminy C przez 12 tygodni istotnie zmniejszyła objawy fotostarzenia i wygładziła zmarszczki w porównaniu z placebo [156]. W badaniu własnym w grupie II i III zastosowano 10% witaminę C. W obu przypadkach odnotowano znaczące działanie antiaging. W przypadku grupy III uzyskano dodatkowo najlepsze wyniki w poprawie

parametrów elastyczności skóry. Może to wynikać z faktu,że w grupie III była najwyższa średnia wieku spośród badanych grup.

W przypadku efektów antiaging bardzo ważny jest czas trwania badania i częstotliwość aplikacji witaminy C na skórę. W badaniu własnym efekty antiagaing uzyskano po 6 zabiegach przeprowadzonych w odstępach dwutygodniowych. Natomiast w randomizowanym, kontrolowanym placebo badaniu z podwójnie ślepą próbą, w którym uczestniczyło 19 zdrowych ochotniczek, miejscowe nakładanie kremu zawierającego 5% witaminę C przez 6 miesięcy znacznie zwiększyło gęstość mikrorzeźby skóry, zmniejszyło głębokie bruzdy i poprawiło ultrastrukturę skóry w porównaniu z leczeniem substancjami pomocniczymi [157]. Na tej podstawie można wysunąć wniosek, że codzienna aplikacja niskich stężeń witaminy C przez długi okres czasu może dawać efekty antiaging podobne do efektów kuracji gabinetowych z użyciem wyższych stężeń w krótszym okresie czasu. Dlatego też najskuteczniejszym rozwiązaniem w celu uzykania maksymalnych rezultatów wydaje się być połączenie zabiegów gabinetowych z użyciem preparatów o wyższych stężeniach i jednoczesne uzupelnianie terapii pielęgnacją domową z użyciem niskich i nie drażniących stężeń witaminy C.

W innym badaniu, w którym uczestniczyło 20 kobiet z fotostarzeniem skóry, miejscowe stosowanie serum zawierającego 23,8% witaminę C połączone z jonoforezą, raz dziennie, przez 2 tygodnie, poprawiło przebarwienia, szorstkość i drobne zmarszczki [140]. Działanie przeciwzmarszczkowe witaminy C zostało również potwierdzone w kontrolowanym placebo badaniu klinicznym z podwójnie ślepą próbą, w którym na jednej połowie twarzy stosowano plastry z mikroigłami nasączone kwasem L-askorbinowym [158]. Po 12 tygodniowej aplikacji ww. plastrów wokół kurzych łapek odnotowano znaczne zmniejszenie zmarszczek w ich okolicy, bez podrażnień skóry i reakcji uczuleniowych. Natomiast w badaniu własnym efekty antiagaing uzyskano po 12 tygodniach, w trakcie których wykonano 6 zabiegów z wykorzystaniem 20% witaminy C połączonej z 0,5% kwasem ferulowym, 10% witaminy C połączonej z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną lub za pomocą czystej aptecznej witaminy C 10%, gdzie przenikalność zwiększono za pomocą sonoforezy lub mezoterapii mikroigłowej. Wyniki te pozwalają stwierdzić, że szybkość uzyskiwanych rezulatów zależy również od sposobu łączenia substancji aktywnej z techniką wspomagającą przenikanie jak rówież od stężenia substancji aktywnej.

Kolejne randomizowane, kontrolowane badanie typu „split-face" wykazało po 2 miesiącach stosowania działanie przeciwstarzeniowe (obejmujące poprawę kolorytu skóry, jej elastyczności, blasku, gładkości, wygładzenia zmarszczek) serum zawierającego kwas L-askorbinowy (20%), α-tokoferol, oraz ekstrakt z hodowli komórkowej liści *Rubus idaeus* u 50 ochotniczek [104]. Potwierdzają to nasze badania, gdzie połączenie witaminy C 20% w postaci kwasu L-askorbinowego z kwasem ferulowym o właściwościach antyoksydacyjnych dało dobre rezultaty antiaging.

W badaniu Lintner et al. [105] stosowanie serum zawierającego 15% kwas L-askorbinowy w połączeniu z octanem α-tokoferylu, palmitoilotripeptydem-38 (5 ppm) na twarzy (1x dziennie) przez 56 dni zmniejszyło szorstkość skóry o 8% oraz poprawiło jej koloryt (redukcja zaczerwienienia o 9%; wzrost jednorodności kolorytu o 8%). Z kolei aplikacja formuły zawierającej 10% kwas L-askorbinowy, biopeptydy (ryżowy i łubinowy), kwas hialuronowy i wulkaniczną wodę mineralizacyjną Vichy bez konserwantów prowadziła do nasilenia obrotu komórkowego skóry w porównaniu ze skórą nie poddaną zabiegom. Efekt ten przełożył się na wygładzenie „kurzych łapek", zmarszczek na czole i fałdzie nosowo-wargowej odpowiednio o 9%, 11% i 5,2% oraz zmniejszenie liczby tych pierwszych o 11,5% [159].

W badaniu własnym badano potenciał przeciw fotostarzeniowy połączenia witaminy C pod postacią kwasu L-askorbinowego z kwasem ferulowym oraz floretyną lub z samym kwasem ferulowym. W obu przypadkach uzyskane efekty antiaging zostały udokumentowane fotograficznie oraz potwierdzone przez opinie badanych w ankietach. Inne badania potwierdzają, że nie tylko witamina C, ale i floretyna są skutecznymi przeciwutleniaczami łagodzącymi stres oksydacyjny poprzez stymulowanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych [160,161]. Ponadto, wykazano, iż floretyna może odnawiać aktywność enzymów antyoksydacyjnych, a także wpływać na szlak sygnałowy TLR2 poprzez interakcje z TLR2/1 i redukować wytwarzanie mediatorów zapalnych (np. cytokiny, chemokiny, itp.) [162]. Kwas ferulowy stosowany w badaniu własnym także wywiera szereg korzystnych efektów na skórze, m.in. blokuje ekspresję enzymów prozapalnych i cytotoksycznych, wykazuje aktywność antyoksydacyjną i antyapoptotyczną [163]. Poza usuwaniem wolnych rodników, kwas ferulowy również hamuje enzymy katalizujące ich generowanie oraz nasila aktywność innych enzymów antyoksydacyjnych [164,165]. Zastosowanie kwasu ferulowego w pielęgnacji skóry przyczynia się do opóźniania procesów fotostarzenia. Wynika to z faktu, że kwas ferulowy ma korzystne działanie na keratynocyty, kolagen, fibroblasty i elastynę, a także

działanie rozjaśniające [166]. Blokuje on melanogenezę, promuje angiogenezę i intensyfikuje gojenie ran. Podobnie jak kwas L-askorbinowy, kwas ferulowy może blokować ekspresję białek MMP-2 (żelatynazy A) i -9 (żelatynazy B) indukowanych przez UVB hamując przez to degradację włókien kolagenowych wywołaną przez UVB [167]. Zduńska-Pęciak i wsp. [142] wykazali, iż stosowanie peelingu z 14% kwasem ferulowym powodowało rozjaśnienie skóry, zmniejszało rumień i poprawiało nawilżenie. Działanie rozjaśniające skórę jest związane z hamującym działaniem kwasu ferulowego na aktywność tyrozynazy. Dzięki zdolności do stymulowania angiogenezy na drodze regulowania aktywności czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF), czynnika 1 indukowanego niedotlenieniem (HIF-1) i czynnika wzrostu pochodzenia płytkowego (PDGF), kwas ferulowy może sprzyjać powstawaniu nowych naczyń krwionośnych [164,168]. Również witamina C ma korzystny wpływ na mikrokrążenie krwi, dzięki czemu zmniejsza rumień. Także floretyna zabezpiecza naczynia krwionośne [169,170]. Z badania Oresajo i wsp. [171] wynika, że połączenie witaminy C, kwasu ferulowego i floretyny wykazywało działanie protekcyjne przed szkodliwym działaniem promieniowania UV zapobiegając fotouszkodzeniom skóry. Ponadto, Shin i wsp. [172] wykazali, że stosowanie floretyny zmniejszało obszar skóry z rumieniem powstałym na skutek promieniowania UV, co sugeruje jej potencjał w ochronie skóry przed promieniowaniem UV. Podobnie do witaminy C, także floretyna wykazuje właściwości przeciwstarzeniowe i depigmentacyjne [173]. Biorąc pod uwagę, że fotostarzenie obejmuje nie tylko utratę gęstości oraz elastyczności skóry, ale również zaburzenia pigmentacyjne, zmiany rumieniowe czy uszkodzenie płasza hydrolipidowego wydaje się, że połaczenie witaminy C z kwasem ferulowym lub z kwasem ferulowym i floretyną stanowi kompleksową i skuteczną terapię likwidującą różne defekty związane z fotostarzeniem skóry.

6.5. Skóra wrażliwa

Skóra wrażliwa stanowi częsty problem, z którym boryka się w różnym stopniu około połowa populacji europejskiej [174]. Choć jej patofizjologia nie jest jeszcze w pełni zrozumiała, wydaje się, że nadmierna aktywność skórnego układu nerwowego (aktywacja białek czuciowych na keratynocytach i zakończeniach nerwowych), a także uszkodzenia bariery lipidowej mogą odgrywać istotną rolę [175,176].

Objawy skóry wrażliwej nasilają się najczęściej pod wpływem czynników zewnętrznych, w tym promieniowania UV, ekstremalnych temperatur, wiatru, pikantnych potraw [177]. Zgodnie z kliniczną definicją, skóra wrażliwa reaguje pojawieniem się uczucia pieczenia, swędzenia, kłucia lub rumienia w odpowiedzi na różne czynniki fizyczne, chemiczne (np. kosmetyki) oraz czynniki psychologiczne (stres) [177,178].

W przeprowadzonym badaniu własnym kryterium kwalifikującym we wszystkich grupach był rumień utrwalony lub napadaowy, a dodatkowo w grupie trzeciej kwalifikacja skóry jako wrażliwej. Aczkolwiek w grupie pierwszej i drugiej z badań ankietowych wynika, że osoby badane również miały problem z nadmierną reaktywnością skóry.

Skóra wrażliwa stanowi wyzwanie w kwestii opracowania skutecznych i bezpiecznych terapii przeciwstarzeniowych. W niniejszym badaniu własnym, zastosowanie badanych terapii pozwoliło na poprawę elastyczności skóry, zmniejszenie rumienia, zmniejszenie pigmentacji przy jednoczesnym braku długotrwałych działań niepożądanych lub objawów silniejszego uczulenia. U niektórych uczestniczek, bezpośrednio po zabiegu występowało zaczerwienienie, uczucia podrażnienia, jednakże w większości przypadków reakcje te ustępowały w ciągu kilku minut, u mniejszości efekt utrzymywał się do kilku godzin. Stosowanie kwasu L-askorbinowego w badaniu własnym istotnie poprawiło elastyczność skóry.

Escobar [179] w swoim badaniu przeprowadzonym na 32 zdrowych kobietach, z których 50% miało skóra wrażliwą, polegającym na miejscowym stosowaniu preparatu zawierającego 10% witaminę C, biopeptydy i kwas hialuronowy potwierdził spłycenie kurzych łapek, zmarszczek czołowych i nosowo-wargowych odpowiednio o 9%, 11% i 5%. Wyniki uzyskano za pomocą oprogramowania Quantirides mierzacego długość, szerokość, głębokość zmarszczek. Z kolei, w badaniu klinicznym z podwójnie ślepą próbą i kontrolą placebo stosowanie preparatu zawierającego 10% kwasu L-askorbinowego przez okres 12 tygodni znacząco zmniejszyło oznaki fotostarzenia, w tym zmarszczki, w porównaniu z placebo [156]. W badaniu własnym, połączenie witaminy C i sonoforezy lub mezoterapii mikroigłowej poprawiło wygląd skóry i wiązało się ze znaczną redukcją przebarwień na policzkach. Natomiast mezoterapia mikroigłowa zmniejszyła również pigmentację na czole. Zabiegi te w żaden sposób nie uwrażliwiły skóry co jest kluczowe w tego typu terapiach. Działanie antiaging to bardzo ważny aspekt w terapii skór wrażliwych, ponieważ skóry borykające się z nadmierną reaktywnością często dotknięte są przyspieszonym procesem starzenia.

Dodatkowo w naszym badaniu zastosowany preparat i obie techniki jego aplikacji znacząco złagodziły zaczerwienienie oraz zmniejszyły reaktywność pod wpływem czynników zewnętrznych po obu stronach twarzy. Witamina C wykazuje działanie ochronne przed promieniowaniem UV, neutralizując wolne rodniki i zmniejszając rumień wywołany promieniowaniem. W jednym z badań na zwierzętach wykazano, że miejscowe stosowanie 10% witaminy C zmniejsza rumień wywołany promieniowaniem UVB o 52% [180]. Preparaty zawierające witaminę C badano również pod kątem redukcji rumienia w trądziku różowatym [181]. Wykazano, że codzienne stosowanie preparatu kosmetycznego 5% kwasu L-askorbinowego przyniosło zarówno obiektywną, jak i subiektywną poprawę rumienia [181]. Autorzy zasugerowali, że wytwarzanie wolnych rodników może odgrywać rolę w reakcji zapalnej trądziku różowatego, a antyoksydacyjne działanie kwasu L-askorbinowego może być odpowiedzialne za skuteczność terapii. Wydaje się, że wspomniane powyżej zwiększenie grubości naskórka może także wiązać się z mniejszą widocznością rozszerzonych naczyń krwionośnych, co przekłada się na zmniejszenie zaczerwienienia. Kwas L-askorbinowy uszczelnia naczynia krwionośne i sprawia, że są mniej kruche, co stanowi kolejny mechanizm, dzięki któremu skutecznie zwalcza on rumień i teleangiektazje.

W badaniu własnym zamiast codzienniej aplikacji witaminy C w niskim stężeniu zastosowano 6 zabiegów z produktem o stężeniu witaminy C 10% wprowadzanej za pomocą mezoterapii mikroigłowej oraz sonoforezy co również dało satysfakcjonujące efekty w redukcji zmian rumieniowych i zmniejszeniu reaktywności skóry. Można zatem wysunąć wniosek, że redukcja rumienia w przypadku skór wrażliwych nie musi się opierać tylko na niskich stężeniach witaminy C i częstych jej aplikacjach. Bezpieczna i skuteczna jest również terapia w gabinetowach kosmetologicznych z wyższymi stężęniami i przy użyciu promotorów przejścia przez naskórek z dwutygodniową częstotliwością.

Kwas L-askorbinowy korzystnie wpływał również na nawilżenie, przywracając prawidłowe parametry na policzkach po zastosowaniu sonoforezy. Ponadto kwas L-askorbinowy w połączeniu z mezoterapią mikroigłową przyczyniał się do istotnego statystycznie zmniejszenia transepidermalnej utraty wody na policzkach. Takie działanie terapii jest kluczowe w przypadku terapii skór wrażliwych.

Oprócz reaktywności na czynniki zewnętrzne, skórze wrażliwej często towarzyszy rumień. W niniejszym badaniu uzyskano znaczną redukcję rumienia zarówno przy zastosowaniu sonoforezy, jak i mezoterapii mikroigłowej. Najlepsze efekty uzyskano na

policzkach po zastosowaniu witaminy C w połączeniu z mezoterapią mikroigłową. Redukcja rumienia na czole była mniejsza, co może wynikać z faktu, że powierzchowne rozszerzone naczynka krwionośne są najczęściej widoczne na policzkach, gdzie skóra jest cieńsza i delikatniejsza niż w innych częściach twarzy, a pomiary wyjściowe były tam znacznie wyższe. Kwas L-askorbinowy uszczelnia naczynia krwionośne co stanowi kolejny mechanizm, dzięki któremu skutecznie zwalcza rumień i teleangiektazje.

Uczestniczki niniejszego badania zaobserwowały ogólną poprawę kondycji skóry, zmniejszenie rumienia, wzrost elastyczności, gęstości i nawilżenia oraz rozjaśnienie skóry. Odnotowano również znaczne zmniejszenie reaktywności skóry spowodowane alkoholem i pikantnymi potrawami, ćwiczeniami fizycznymi, zmianami temperatury i stresem.

6.6. Efekty uboczne

Wszystkie terapie zastosowane w ramach niniejszego badania były bardzo dobrze tolerowane przez osoby badane. Częściej po stronie twarzy, po której zastosowano mezoterapię występowało krótkotrwałe podrażnienie i zaczerwienienie skóry. Podrażnienia te były jednak krótkotrwałe, problem ustępował po kilku godzinach od terapii. Niektóre kobiety odczuwały lekki dyskomfort skóry (lekkie pieczenie, napięcie skóry, kłucie, swędzenie), jednak efekty przeważnie znikały w ciągu kilku lub kilkunastu minut. Fakt ten jest kluczowy w celu ocenienia procedur zabiegowych. Zabiegi kosmetologiczne powinny być skuteczne, ale przede wszytskim bezpieczne.

VII. WNIOSKI

1. Wszystkie badane preparaty zarówno z użyciem sonoforezy jak i mezoterapii mikroigłowej w sposób znaczący zredukowały rumień.
2. Największy stopień redukcji rumienia uzyskano w terapii z użyciem 20% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowego.
3. Najlepsze efekty rozjaśniające przy pomiarach aparaturowych uzyskano w grupie III, gdzie zastosowano roztwór iniekcyjny zawierający 500 mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml), aczkolwiek w pozostałych grupach w badaniu ankietowym też odnotowano satysfakcjonujące rozjaśnienie skóry, co potwierdza dokumentacja fotograficzna.
4. Największą skuteczność w poprawie nawilżenia oraz zmniejszenia transepidermalnej utraty wody uzyskano za pomocą 10% kwasu L-askorbinowego połączonego z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną w grupie II.
5. Wszystkie badane preparaty w opinii uczestników badania okazały się być skuteczne w poprawie elastyczności skóry. Największą poprawę w badaniach aparaturowych, która była istotna statystycznie uzyskano w grupie III, gdzie zastosowano roztwór 500 mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml).
6. Nie odnotowano istotnej statystycznie różnicy między mezoterapią mikroigłową, a sonoforezą w skuteczności działania aplikowanych substancji aktywnych.
7. Zastosowanie roztworu iniekcyjnego zawierającego 500 mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml) w grupie III okazało się skuteczną i bezpieczną metodą terapii skór wrażliwych.
8. Na podstawie badań ankietowych i obserwacji własnych stwierdzono, że badane preparaty były bezpieczne i nie powodowały żadnych długotrwałych skutków ubocznych. Dodatkowo na podstawie ankiet wykazano, że badane preparaty w znaczący sposób redukowały wrażliwość skóry pod wpływem czynników zewnętrznych.

VIII. STRESZCZENIE

Skóra naczyniowa charakteryzuje się występowaniem zmian rumieniowych oraz teleangiektazji obejmujących obszar twarzy, szyi oraz dekoltu. Rumień najczęściej jest definiowany jako widoczne zaczerwienienie skóry, które może mieć charakter epizodyczny lub stały. Natomiast skóra wrażliwa charakteryzowana jest jako szereg nieprzyjemnych odczuć o różnym natężeniu, w odpowiedzi na bodźce, które normalnie nie powinny wywołać takich reakcji. Najczęściej występują objawy w postaci świądu, kłucia, pieczenia, mrowienia czy bólu, często połączone z rumieniem.

Kwas L-askorbinowy stanowi kluczowy składnik dla prawidłowej budowy oraz funkcjonowania tkanki łącznej skóry. Wiąże się to z faktem, że witamina C jest niezbędna przy produkcji kolagenu, gdzie stanowi kofaktor do hydroksylacji proliny i lizyny. Dodatkowo witamina C jest jednym z najsilniejszych antyoksydantów. Łączenie witaminy C z innymi substancjami daje możliwość wzmocnienia jej właściwości.

Kwas ferulowy stanowi bardzo dobry antyoksydant, który oprócz zwalczania reaktywnych form tlenu (ROS) wpływa na angiogenezę. Natomiast floretyna ma udowodnioną zdolność tłumienia i redukowania odpowiedzi zapalnej, hamownia aktywności metaloproteinazy MMP-1 i elastazy oraz działania depigmentacyjnego.

W badaniu porównano dwie metody zwiększające przenikalność substancji aktywnych. Mezoterapia mikroigłowa ma na celu doprowadzić do kontrolowanego uszkodzenia tkanki za pomocą bardzo cienkich igieł znajdujących się w specjalnym urządzeniu. Sonoforeza natomiast to zabieg kosmetologiczny, który polega na wykorzystaniu ultradźwięków. Podczas procedury zabiegowej dochodzi do usprawnienia transportu substancji aktywnych w głąb skóry przez fale ultradźwiękowe.

Badanie obejmowało 72 osoby w przedziale wiekowym od 18 do 63 lat, które podzielono na 3 grupy. Pierwszą i drugą grupę stanowiły kobiety ze skórą rumieniową, a trzecią grupę stanowiły osoby, u których skóra oprócz rumienia została sklasyfikowana jako skóra wrażliwa. U każdej osoby badanej wykonano 6 zabiegów w dwutygodniowych odstępach. Preparaty użyte w badaniu to: grupa I – 20% kwas L-askorbinowy połączony z 0,5% kwasem ferulowym, grupa II - 10% kwas L-askorbinowy połączony z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną, grupa III - roztwór iniekcyjny zawierający 500mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml). Substancje aktywne wprowadzane były za pomocą mezoterapii mikroigłowej (0,2mm) na prawej stronie twarzy oraz za pomocą

sonoforezy na lewej stronie. Zmiany w nasileniu rumienia, zmiany pigmentacji jak również nawilżenie i transepidermalną utratę wody (TEWL) mierzono za pomocą MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Kolonia, Niemcy), natomiast elastyczność mierzono za pomocą Cutometer® Dual MPA 580. Wszyscy uczestnicy wypełnili również ankietę zawierającą pytania dotyczące subiektywnej oceny zaobserwowanych zmian skórnych. Dodatkowo wykonano dokumentacje fotograficzną.

Cele pracy:

1. Ocena porównawcza wpływu 10% czystego kwasu L-askorbinowego (roztwór iniekcyjny 100mg/ml), 20% kwasu L- askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz 10% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną na stopień redukcji zmian rumieniowych.
2. Ocena aparaturowa wpływu 10% czystego kwasu L-askorbinowego (roztwór iniekcyjny 100mg/ml), 20% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz 10% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną na: nawilżenie, transepidermalną utratę wody, poziom melaniny, nasilenie rumienia oraz elastyczność skóry.
3. Ocena aparaturowa oraz subiektywna skuteczności wpływu kwasu L-askorbinowego na nawilżenie, transepidermalną utratę wody, poziom melaniny, nasilenie rumienia oraz elastyczność w przypadku skór wrażliwych.
4. Ocena porównawcza wpływu mezoterapii mikroigłowej oraz sonoforezy na skuteczność aplikowanych substancji.
5. Przygotowanie i opracowanie ankiety pozwalającej na porównanie skuteczności i bezpieczeństwa terapii według indywidualnej oceny osób badanych.

Z przeprowadzonych badań wynikają następujące wnioski:

1. Wszystkie badane preparaty zarówno z użyciem sonoforezy jak i mezoterapii mikroigłowej w sposób znaczący zredukowały rumień.
2. Największy stopień redukcji rumienia uzyskano w terapii z użyciem 20% kwasu L-askorbinowego z 0,5% kwasem ferulowego.
3. Najlepsze efekty rozjaśniające przy pomiarach aparaturowych uzyskano w grupie III, gdzie zastosowano roztwór iniekcyjny zawierający 500 mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml), aczkolwiek w pozostałych grupach w badaniu

ankietowym też odnotowano satysfakcjonujące rozjaśnienie skóry, co potwierdza dokumentacja fotograficzna.

4. Największą skuteczność w poprawie nawilżenia oraz zmniejszenia transepidermalnej utraty wody uzyskano za pomocą 10% kwasu L askorbinowego połączonego z 0,5% kwasem ferulowym oraz z 2% floretyną w grupie II.
5. Wszystkie badane preparaty w opinii uczestników badania okazały się być skuteczne w poprawie elastyczności skóry. Aczkolwiek największą poprawę w badaniach aparaturowych, która była istotna statystycznie uzyskano w grupie III, gdzie zastosowano roztwór 500 mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml TEVA).
6. Nie odnotowano istotnej statystycznie różnicy między mezoterapią mikroigłową, a sonoforezą w skuteczności działania aplikowanych substancji aktywnych.
7. Zastosowanie roztworu iniekcyjnego zawierającego 500 mg kwasu L-askorbinowego (100 mg/ml) w grupie III okazało się skuteczną i bezpieczną metodą terapii skór wrażliwych.
8. Na podstawie badań ankietowych i obserwacji własnych stwierdzono, że badane preparaty były bezpieczne i nie powodowały żadnych długotrwałych skutków ubocznych. Dodatkowo na podstawie ankiet wykazano, że badane preparaty w znaczący sposób redukowały wrażliwość skóry pod wpływem czynników zewnętrznych.

IX. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Vascular skin is characterized by erythematous lesions and telangiectasias in the face, neck and décolletage area. Erythema is most often defined as visible redness of the skin, which can be episodic or permanent. Sensitive skin, on the other hand, is characterized as a series of unpleasant sensations of varying intensity in response to stimuli that should not normally trigger such reactions. The most common symptoms are itching, stinging, burning, tingling or pain, often accompanied by erythema.

L-ascorbic acid is a key component for the normal structure and function of the skin's connective tissue. This is due to the fact that vitamin C is essential for collagen production, where it is a cofactor for the hydroxylation of proline and lysine. In addition, vitamin C is one of the most potent antioxidants. Combining vitamin C with other substances provides an opportunity to enhance its properties.

Ferulic acid is a very good antioxidant that, in addition to fighting reactive oxygen species (ROS), affects angiogenesis. Phloretin, on the other hand, has a proven ability to suppress and reduce inflammatory response, inhibit the activity of metalloproteinase MMP-1 and elastase, and have a depigmenting effect.

The study compared two methods to increase the permeability of active substances. Micro-needle mesotherapy aims to bring about controlled tissue damage using very fine needles contained in a special device. Sonophoresis, on the other hand, is a cosmetic procedure that involves the use of ultrasound. During the treatment procedure, the transport of active substances deep into the skin is improved by ultrasonic waves.

The study included 72 persons between the ages of 18 and 63, who were divided into 3 groups. The first and second groups were women with erythematous skin, and the third group consisted of subjects whose skin was classified as sensitive skin in addition to erythema. Each subject received six treatments at two-week intervals. The preparations used in the study were: group I - 20% L-ascorbic acid combined with 0.5% ferulic acid, group II - 10% L-ascorbic acid combined with 0.5% ferulic acid and 2% phloretin, group III - Injection solution containing 500mg of L-ascorbic acid (100 mg/ml). The active substances were introduced by micro-needle mesotherapy (0.2mm) on the right side of the face and by sonophoresis on the left side. Changes in erythema severity, pigmentation changes as well as hydration and transepidermal water loss (TEWL) were measured using the MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Cologne, Germany) while

elasticity was measured with Cutometer® Dual MPA 580. All participants also completed a questionnaire that included questions on subjective evaluation of the skin changes observed. In addition, photographic documentation was taken.

Objectives:

1. Comparative evaluation of the effects of 10% pure L-ascorbic acid (100mg/ml injection solution), 20% L-ascorbic acid with 0.5% ferulic acid, and 10% L-ascorbic acid with 0.5% ferulic acid and 2% phloretin on the degree of reduction of erythematous lesions.
2. Instrumental evaluation of the effects of 10% pure L-ascorbic acid (100mg/ml injection solution), 20% L-ascorbic acid with 0.5% ferulic acid and 10% L-ascorbic acid with 0.5% ferulic acid and with 2% phloretin on: hydration, transepidermal water loss, melanin levels, erythema severity and skin elasticity.
3. Instrumental and subjective evaluation of the effectiveness of L-ascorbic acid on hydration, transepidermal water loss, melanin levels, erythema severity and elasticity in sensitive skins.
4. Comparative evaluation of the effect of micro-needle mesotherapy and sonophoresis on the effectiveness of the applied substances.
5. Preparation and development of a questionnaire in order to compare the effectiveness and safety of the therapy according to individual assessment of probands.

The following conclusions are drawn from the study:

1. All tested preparations significantly reduced erythema with both sonophoresis and micro-needle mesotherapy.
2. The greatest degree of erythema reduction was achieved in therapy using 20% L-ascorbic acid with 0.5% ferulic acid.
3. The utmost brightening effects registered by camera measurements were obtained in group III, where an injectable solution containing 500 mg of L-ascorbic acid (100 mg/ml) was used, although according to the questionnaire survey satisfactory skin brightening was also noted in other groups, as confirmed by photos.
4. The greatest efficacy in improving hydration and reducing transepidermal water loss was achieved with 10% L-ascorbic acid combined with 0.5% ferulic acid and 2% phloretin in group II.

5. In the opinion of the study participants, all of the formulations appeared to be effective in improving skin elasticity. Nonetheless, the greatest improvement in the apparatus tests, which was statistically significant, was obtained in group III, where the 500 mg L-ascorbic acid solution (100 mg/ml TEVA) was used.
6. There was no statistically significant difference between micro-needle mesotherapy and sonophoresis in the effectiveness of the applied active substances.
7. The use of an injectable solution containing 500 mg of L-ascorbic acid (100 mg/ml) in group III proved to be an effective and safe method of therapy for sensitive skins.
8. Based on questionnaires and own observations, it was concluded that the tested formulations were safe and did not cause any long-term side effects. In addition, based on the answers given in questionnaires, it was shown that the tested formulations significantly reduced skin sensitivity when exposed to external factors.

X. PIŚMIENNICTWO

1. Krysiak-Zielonka I, Kałużna O. *Problemy cery naczyniowej – charakterystyka i niwelowanie zmian*. Kosm Est. 2019;4(8):427-432.
2. Marwicka J, Gałuszka A. *Zastosowanie preparatów witaminowych w procesie pielęgnacji skóry*. Aesth Cosmetol Med. 2021;10(4):181-187. https://doi.org./10.52336/acm.2021.10.4.02.
3. Lehman KA. *Pielęgnacja skóry osób chorych na atopowe zapalenie skóry w gabinecie kosmetycznym*. Aesth Cosmetol Med. 2022;11(3):87-90. https://doi.org./10.52336/acm.2022.013.
4. Glenc-Ambroży M, Piejko L. *Zastosowanie mezoterapii mikroigłowej w biorewitalizacji skóry twarzy – opis przypadków.* Pol J Cosm 2020;23(2):125-131.
5. Martini M.C. *Kosmetologia i farmakologia skóry*. Wyd Lek PZWL. Warszawa 2007;37-58.
6. Ratajczyk-Stefańska W, Maleszka R, Kiedrowicz M. *Skóra naczyniowa- problemy diagnostyczne*. Rocznik Pomorskiej Akademii Medycznej. 2009;1:58-65.
7. Mathis V, Kenny P. *Neuroscience: Brain Mechanisms of Blushing*. Current Biology. 2018;28:92-91.
8. Otani A, Otani L, Carlson K.C. *Superficial neurovasculature of the head and neck*. Semin. Dermatol. 1994;13:43–47.
9. Izikson L, English J.C, Zirwas M.J. *The flushing patient: differentia diagnosis, workup, and treatment*. J. Am. Acad. Dermatol. 2006; 55:193–208.
10. Wilkin J.K. *Why is flushing limited to a mostly facial cutaneous distribution?* J. Am. Acad. Dermatol. 1988;19:309–313.
11. Wolski T, Kędzia B. *Pharmacotherapy of skin. Part 1. Constitution and physiology of skin*. Postępy Fitoterapii 2019;1:61-67.
12. Wenger C.B. *The Regulation of Body Temperature*. [w:] Rhoades R.A, Tanner G.A. (red.) Medical physiology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2003;537.
13. Franks E, Werth V. *Cutaneous aspects of cardiopulmonary disease. Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. Ed. I.M. Freedberg. Mc Graw-Hill, New York 2003.
14. Drummond PD. *Mechanisms of autonomic disturbance in the face during and between attacks of cluster headache*. Cephalalgia 2006;26:633–641.

15. Steinhoff M, Schmelz M, Schauber J. *Facial erythema of rosacea: Aetiology, different pathophysiologies and treatment options*. Acta. Derm. Venereol. 2016;96: 579-586.
16. Neumann E, Frithz A. *Capillaropathy and capillaroneogenesis in the pathogenesis of rosacea*. Int J Dermatol 1998;37(4): 263–266.
17. Mujadzic M, Ritter E. *A Novel Approach for the Treatment of Spider Veins*. Aesthetic surgery journal 2015;8:221-228.
18. Hatlapa M. *Zmiany w układzie naczyniowym skóry. Teleangiektazje i wenektazje*. Polish Journal of Cosmetology 2004;1:19-26.
19. Tong P, Prasad S. *Bosentan - A previously unrecognised cause of facial telangiectasia*. Annals Academy of Medicine 2020;11:875-876.
20. Ioannis E, et al. *Management of Facial Telangiectasias with Hand Cautery*. World Journal of plastic surgery 2015;6:127-132.
21. Ray D, Williams G. *Pathophysiological causes and clinical significance of flushing*. Br J Hosp Med 1993;50:594-598.
22. Stander S, Schneider SW, Weishaupt C, Luger TA, Misery L. *Putative neuronal mechanisms of sensitive skin*. Exp Dermatol 2009;18:417-423.
23. Izikson L, English JC, Zirwas MJ. *The flushing patient: differentia diagnosis, workup, and treatment*. J Am Acad Dermatol 2006;55:193-208.
24. Siwiera I, Wysocki M, Łątkowski T. *Zastosowanie laserów w chirurgii plastycznej-lasery naczyniowe*. Wiadomości lekarskie 2007;3-4,178-184.
25. Kaszuba A, Halbina A. *Lasery i laseroterapia od A do Z*. Dermatologia Estetyczna 2008;4:278-282.
26. Mańkowska A, Adamski Z, Kasprzak W. *Usuwanie zmian naczyniowych skóry typu: teleangiektazje, spiker nevi, angioma cherry za pomocą lasera KTP 532 nm*. Dermatologia praktyczna 2012;3:15-24.
27. Kobierzycka M, Chwojnicki A, Czarnecka A. *Wykorzystanie procedur elektrochirurgicznych w dermatologii*. Dermatologia kliniczna 2006;8:269- 273.
28. Karłowicz-Bodalska K, Rudkowska E, Han-Marek M. *Leki naturalne o działaniu ochraniającym ściany naczyń krwionośnych*. Postępy Fitoterapii 2006;1:47-57.
29. Broniarczyk-Dyła G, Kmieć M, Prusińska-Bratos M. *Czy flawonoidy zmniejszają stopień nasilenia rumienia u chorych z odmianą rumieniowo- teleangiektatyczną trądziku różowatego*. Dermatologia Estetyczna 2012;2:88-93.

30. Liu R, Smith K, Basta S, et al. Azelaic *Acid in the Treatment of Papulopustular Rosacea*. Arch. Dermatol. 2006;142(8):1047-1052.
31. Farage M.A. *Jak postrzeganie skóry wrażliwej różni się w różnych miejscach anatomicznych? Badanie epidemiologiczne*. Clin. Exp. Dermatol. 2009;34:521-530.
32. Misery L, Myon E, Martin N, Verriere F, Nocera T, Taieb C. *Sensitive skins in France: an epidemiological approach (in French)*. Ann. Dermatol. Venereol. 2005;132:425-429.
33. Richters R, Falcone D, Uzunbajakava N, Verkruysse W. *What is sensitive skin? A systematic literature review of objective measurments*. Skin Pharmacol Physiol 2015;28:75-83.
34. Misery L, Myon E, Martin N, Consoli S, Boussetta S, Nocera T, et al. *Sensitive skin: psychological effects and seasonal changes*. J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol. 2007;21:620-628.
35. Nędza L. *Skóra wrażliwa i trądzik różowaty: ramy nosologiczne*. Ann. Dermatol. Venereol. 2011;138:207-210.
36. Misery L. *Sensitive skin.* Expert Rev Dermatol 2013;8:631-637.
37. Stander S, Schneider S.W, Weishaupt C, Luger T.A, Misery L. *Putative neuronal mechanisms of sensitive skin*. Exp Dermatol 2009;18:417-423.
38. Yokata T, Matsumoto M, Sakamaki T. *Klasyfikacja skóry wrażliwej i opracowanie systemu leczenia odpowiedniego dla każdej grupy*. IFSCC Mag 2003;6:303-307.
39. Mils O.H, Berger R.S. *Określenie podatności populacji skóry trądzikowej i wrażliwej na czynniki zewnętrzne*. Dermatol Clin 1991;1:93-98.
40. Willis C.M, Shaw S, De Lacharriere O, et al. *Sensitive skin: an epidemiological study*. Br J Dermatol 2001;145:258-263.
41. Misery L, Boussetta S, Nocera T, Perez-Cullel N, Taieb C. *Sensitive skin in Europe*. J Eur. Acad. Dermatol. Venereal. 2009;23:376-381.
42. Mariott M, Maibach H.I, Peters I, Cooper K, Rowson M, et al. *Złożony problem skóry wrażliwej*. Contact Derm 2005;53:93-99.
43. Green B.G, Shaffer G.S. *Psychofizyczna ocena chemicznej drażliwości ludzkiej skóry*. J Soc Cosmet Chem 1991;43:131-147.
44. Farage M.A, Maibach H.I. *Sensitive skin: closing in a physiological cause*. Contact Derm 2010;62:137-149.

45. Misery L, Sibaud V, Ambronati M, Macy G, et al. *Sensitive skin in the American population: prevalence, clinical data, and role of the dermatologist*. Inst J Dermatol 2011;50:961-967.
46. Misery L, Rahhali N, Ambonati M, et al. *Ocena nasilenia i symptomatologii wrażliwej skóry głowy za pomocą nowej skali*. J Eur Acad Dermatol Venereol 2011;25:1295-1298.
47. Lebonvallet N, Jeanmarine C, Danaux L, Sibille P, et al. *The evaluation and use of skin explants: potential and limitations for dermatological research*. Eur. J. Dermatol. 2010;20:671-684.
48. Branco N, Lee I, Zhai H, Maibach H.I. *Long-term repetitive sodium lauryl sulfate-induced irritation of the skin*. Contact Derm 2005;53:278-284.
49. Kligman A. *Modele ludzkie do charakterystyki „skóry wrażliwej”*. Cosmet. Dermatol. 2001;14:15-19.
50. Pauly G, Moussou P, Contet-Audonnneau, et al. *Nowy peptydowy składnik aktywny zmniejszający dyskomfort i bolesne doznania w skórze wrażliwej*. IFSCC Mag. 2009;12:25-30.
51. Boulais N, Misery L. *Naskórek: tkanka sensorczna*. Eur. J. Dermatol. 2008;18:119-127.
52. Kida N, Sokabe T, Kashio M, et al. *Importance of transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in epidermal barrier function in human skin keratinocytes*. Pflugeres Arch. 2012;463:717-725.
53. Farage M.A,,Maibach H.I, *Sensitive skin: closing in a physiological cause*. Contact Derm. 2010;62:137-149.
54. Querleux B, Dauchot K, Jourdain R, Bastien P, Bittoun J, Anton JA, Burnod Y, De Lacharrière O. *Neural basis of sensitive skin: an fMRI study*. Skin Res Technol. 2008;14(4):454-61. doi: 10.1111/j.1600-0846.2008.00312.x.
55. Kleszczowska E. *Właściwości fizykochemiczne i zastosowanie witaminy C w preparatach kosmetycznych*. Medycyna Estetyczna i Anty- Aging 2007;1:6-11.
56. Kleszczowska E, Żmijkowska A. *Rola biologiczna i właściwości wybranych witamin rozpuszczalnych w wodzie*. Polski Merkuriusz Lekarski 2003;89:463- 467.
57. Devaki S.J, Raveendran R.L. *Vitamin C: Sources, Functions, Sensing and Analysis*. Vitamin C. wyd. InTech 2017.
58. Cieślak- Golonka M. *Właściwości chemiczne i biologiczne kwasu L- askorbinowego*. Wiadomości Chemiczne. 1995, 9/10: 525-545.

59. Parsons K.K, Maeda N, Yamauchi, M, Banes A.J, Koller B.H. *Ascorbic acid-independent synthesis of collagen in mice*. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.2006; 290:1131–1139.
60. Kleszczowska E. *Współczesne poglądy na funkcje i właściwości kwasu L-askorbinowego*. Polski Merkuriusz Lekarski 2000;8:155-158.
61. Kameyama K, Sakai C, Kondoh S, Yonemoto K, Nishiyama S, Tagawa M, Murata T, Ohnuma T, Quigley J, Dorsky A, et al. *Inhibitory effect of magnesium L-ascorbyl-2-phosphate (VC-PMG) on melanogenesis in vitro and in vivo*. J. Am. Acad. Dermatol. 1996;34:29–33.
62. Stewart M.S, Cameron G.S, Pence B.C. *Antioxidant nutrients protect against UVB-induced oxidative damage to DNA of mouse keratinocytes in culture*. J. Investig. Dermatol. 1996;106:1086–1089.
63. Dreher F, Gabard B, Schwindt D.A, Maibach H.I. *Topical melatonin in combination with vitamins E and C protects skin from ultraviolet-induced erythema: A human study in vivo*. Br. J. Dermatol. 1998;139:332–339.
64. Pasonen-Seppanen S, Suhonen T.M, Kirjavainen M, Suihko E, Urtti A, Miettinen M, Hyttinen M, Tammi M, Tammi R. *Vitamin C enhances differentiation of a continuous keratinocyte cell line (REK) into epidermis with normal stratum corneum ultrastructure and functional permeability barrier*. Histochem. Cell. Biol. 2001;116:287–297.
65. Savini I, Catani M.V, Rossi A, Duranti G, Melino G, Avigliano L. *Characterization of keratinocyte differentiation induced by ascorbic acid: Protein kinase C involvement and vitamin C homeostasis*. J. Investig. Dermatol. 2002;118: 372–379.
66. Duarte T.L, Cooke M.S, Jones G.D. *Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells*. Free Radic. Biol. Med. 2009;46:78–87.
67. Pawlaczyk M, Korzeniowska K, Rokowska-Waluch A. *Witamina C i skóra*. Farmacja Współczesna 2012;5:174-178.
68. Kilian-Pięta E. *Witamina C jako niezbędny składnik dla skóry człowieka oraz czynniki determinujące jej wchłanianie*. Kosmetologia Estetyczna 2019;8: 25-29.
69. Farris P.K. *Topical vitamin C: a useful agent for treating photoaging and other dermatologic conditions*, Dermatol Surg, 2005;31:814-817.
70. Zhou W, Liu W, Zou L, Liu W, Liu C., Liang R, Chen J. *Storage stability and skin permeation of vitamin C liposomes improved by pectin coating*, Colloids Surf B Biointerfaces 2014;117:330-337.

71. Kanaski J, Aksenova M, Stoyanova A, Butterfield D.A. *Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxyl radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure activity studies*. J. Nutr. Biochem. 2002;13:273–281.
72. Graf E. *Antioxidant potential of ferulic acid*. Free Radic. Biol. Med. 2000;28:1249–1256.
73. Zduńska K, Dana A, Kołodziejczak A, Rotsztejn H. *Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application.* Skin pharmacology and physiology 2018;8:332-336.
74. Rice-Evans C.A, Miller N.J, Paganga G. *Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids*. Free Rad Biol Med 1996;20:933–956.
75. Truong DH, Thi Ai Nhung N, Dao DQ. *Iron ions chelation-based antioxidant potential vs. pro-oxidant risk of ferulic acid: A DFT study in aqueous phase.* Comp and Theor Chem 2020.1185:112905 doi:10.1016/j.comptc.2020.112905.
76. Rice-Evans C.A, Miller N.J, Paganga G. *Antioxidant properties of phenolic compounds*. Trends Plant Sci 1997;2:152–159.
77. Casarini T.P, Frank L.A, Pohlmann A.R, Guterres S.S. *Dermatological applications of the flavonoid phloretin.* Eur. J. Pharmacol. 2020;89:1-9.
78. Auner B.G, Wirth M, Valenta C. *Antioxidative activity and cytotoxicity of four different flavonoids for dermal applications*. J. Drug Deliv. Sci. Technol. 2005;15:227–232.
79. Auner B.G, Valenta C, Hadgraft J. *Influence of lipophilic counter-ions in combination with phloretin and 6-ketocholestanol on the skin permeation of 5- aminolevulinic acid*. Int. J. Pharm. 2003;255:109–116.
80. Auner B.G, Valenta C, Hadgraft J. *Influence of phloretin and 6-keto-cholestanol on the skin permeation of sodium-fluorescein*. J. Contr. Release. 2003;89:321–328.
81. Leu S.J, Lin Y.P, Lin R.D, Wen C.L, Cheng K.T, Hsu F.L, Lee M.H. *Phenolic constituents of Malus doumeri var. formosana in the field of skin care*. Biol. Pharm. Bull. 2006;29:740–745.
82. Kum H, Roh K.B, Shin S, Jung K, Park D, Jung E. *Evaluation of anti-acne properties of phloretin in vitro and in vivo*. Int. J. Cosmet. Sci. 2016;38:85–92.
83. Abkin S.V, Ostroumova O.S, Komarova E.Y, Meshalkina D.A, Shevtsov M.A, Margulis B.A, Guzhova I.V. *Phloretin increases the anti-tumor efficacy of*

intratumorally delivered heat-shock protein 70 kDa (HSP70) in a murine model of melanoma. Canc. Immunol. Immunother. 2016;65:83–92.

84. Styczeń P. *Dermalorerry w kosmetologii i medycynie estetycznej*. Kosmetolofia estetyczna 2015;5:473-488.
85. Singh A, Yadav S. *Microneedling with dermaroller*. J Cutan Aesthet Surg. 2009;2:110-111.
86. Gaweł E, Urtnowska-Jopek K. *Mezoterapia mikroigłowa- aparatura oraz wskazania*. Kosmetologia estetyczna 2019;5:607-611.
87. Fernandes D. *Minimally invasive percutaneous collagen induction*. OralMaxillofac Surg Clin North Am. 2005;17:51-63.
88. Śliwiński A. *Ultradźwięki i ich zastosowanie*. Warszawa: WNT; 2001.
89. Allen L, Popovich G, Ansel H. *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. Transdermal drug delivery systems 2006;298-315.
90. Swarbrick J. *Transdermal Delivery: Sonophoresis,* Encyclopedia of pharmaceutical technology 2007;3828-3842.
91. Pahade A, Jadhav V, Kadam V. *Sonophoresis: an overview*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 3,2010;24-32.12.
92. Terahara T, Mitragotri S, Kost J, Langer R. *Dependence of low-frequency sonophoresis on ultrasound parameters; distance of the horn and intensity*. International Journal of Pharmaceutics 2002;35-42
93. Zasada M, Erkiert-Polguj A, Algiert-Zielinska B, Rotsztejn H, Budzisz E. *Skuteczność zabiegów sonoforezy i elektroporacji w ocenie własnej osób badanych*. Kosmetologia Estetyczna 2017;4:353-357.
94. Park ES, Na JI, Kim SO, Huh CH, Youn SW, Park KC. *Application of a pigment measuring device--Mexameter--for the differential diagnosis of vitiligo and nevus depigmentosus*. Skin Res Technol. 2006;12(4):298-302.
95. Clarys R, Clijsen P, Barel A. *Influence of probe application pressure on in vitro and in vivo capacitance (Corneometer CM 825) and conductance (Skicon 200 EX) measurements*. Skin Res Tech. 2011;17:445–450.
96. Akhtar N, Waqas M.K, Ahmed M, Saeed T, Murtaza G, Rasool A, Aamir M.N, Khan S.A, Bhatti N.S, Ali A. *Effect of Cream Formulation of Fenugreek Seed Extract on Some Mechanical Parameters of Human Skin*. Trop J Pharm Res.2010;9(4):329-340.

97. Krueger N, Luebberding S, Oltmer M. *Age-related changes in skin mechanical properties: a quantitative evaluation of 120 female subjects*. Skin Res Tech. 2011;17:141-148.
98. Ravetti S, Clemente C, Brignone S, Hergert L, Allemandi D, Palma S. *Ascorbic Acid in Skin Health. Cosmetics*. 2019;6(4):58.
99. Al-Niaimi F, Chiang NYZ. *Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications*. J Clin Aesthet Dermatol. 2017;10(7):14-7
100. Gęgotek A, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. *Cytoprotective Effect of Ascorbic Acid and Rutin against Oxidative Changes in the Proteome of Skin Fibroblasts Cultured in a Three-Dimensional System*. Nutrients. 2020;12(4).
101. Choi S, Han J, Kim JH, Kim AR, Kim SH, Lee W, et al. *Advances in dermatology using DNA aptamer "Aptamin C" innovation: Oxidative stress prevention and effect maximization of vitamin C through antioxidation*. J Cosmet Dermatol. 2020;19(4):970-6.
102. Fuchs J, Kern H. *Modulation of UV-light-induced skin inflammation by D-alpha-tocopherol and L-ascorbic acid: a clinical study using solar simulated radiation*. Free Radic Biol Med. 1998;25(9):1006-12.
103. Gianeti MD, Gaspar LR, Camargo FB, Jr., Campos PM. *Benefits of combinations of vitamin A, C and E derivatives in the stability of cosmetic formulations*. Molecules. 2012;17(2):2219-30.
104. Rattanawiwatpong P, Wanitphakdeedecha R, Bumrungpert A, Maiprasert M. *Anti-aging and brightening effects of a topical treatment containing vitamin C, vitamin E, and raspberry leaf cell culture extract: A split-face, randomized controlled trial*. Journal of cosmetic dermatology. 2020;19(3):671-6.
105. Lintner K, Gerstein F, Solish N. *A serum containing vitamins C & E and a matrix-repair tripeptide reduces facial signs of aging as evidenced by Primos® analysis and frequently repeated auto-perception*. J Cosmet Dermatol. 2020;19(12):3262-9.
106. Gęgotek A, Ambrożewicz E, Jastrząb A, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. *Rutin and ascorbic acid cooperation in antioxidant and antiapoptotic effect on human skin keratinocytes and fibroblasts exposed to UVA and UVB radiation*. Arch Dermatol Res. 2019;311(3):203-19.
107. Jenkins G, Wainwright LJ, Holland R, Barrett KE, Casey J. *Wrinkle reduction in post-menopausal women consuming a novel oral supplement: a double-blind placebo-controlled randomized study*. Int J Cosmet Sci. 2014;36(1):22-31.

108. Crisan D, Roman I, Crisan M, Scharffetter-Kochanek K, Badea R. *The role of vitamin C in pushing back the boundaries of skin aging: an ultrasonographic approach*. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2015;8:463-70.

109. Garre A, Narda M, Valderas-Martinez P, Piquero J, Granger C. *Antiaging effects of a novel facial serum containing L-Ascorbic acid, proteoglycans, and proteoglycan-stimulating tripeptide: ex vivo skin explant studies and in vivo clinical studies in women*. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2018;11:253-63.

110. Hantke B, Lahmann C, Venzke K, Fischer T, Kocourek A, Windsor LJ, et al. *Influence of flavonoids and vitamins on the MMP- and TIMP-expression of human dermal fibroblasts after UVA irradiation*. Photochem Photobiol Sci. 2002;1(10):826-33.

111. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. *Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis*. Int J Mol Sci. 2016;17(6).

112. Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. *Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs*. J Enzyme Inhib Med Chem. 2016;31(sup1):177-83.

113. Quan T, Fisher GJ. *Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review*. Gerontology. 2015;61(5):427-34.

114. Imokawa G, Ishida K. *Biological Mechanisms Underlying the Ultraviolet Radiation-Induced Formation of Skin Wrinkling and Sagging I: Reduced Skin Elasticity, Highly Associated with Enhanced Dermal Elastase Activity, Triggers Wrinkling and Sagging*. International Journal of Molecular Sciences. 2015;16(4):7753-75.

115. Lee SJ, Koh J-S, Ha B-J, Boo YC. *Quercus glauca extract and rutin inhibit the UVB-induced expression of matrix metalloproteinase-1 in human dermal fibroblasts*. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 2010;53(6):677-84.

116. Lee JE, Oh J, Song D, Lee M, Hahn D, Boo YC, et al. *Acetylated Resveratrol and Oxyresveratrol Suppress UVB-Induced MMP-1 Expression in Human Dermal Fibroblasts*. Antioxidants (Basel). 2021;10(8).

117. Wang XY, Bi ZG. *UVB-irradiated human keratinocytes and interleukin-1alpha indirectly increase MAP kinase/AP-1 activation and MMP-1 production in UVA-irradiated dermal fibroblasts*. Chin Med J (Engl). 2006;119(10):827-31.

118. Kim J, Kim J, Lee YI, Almurayshid A, Jung JY, Lee JH. *Effect of a topical antioxidant serum containing vitamin C, vitamin E, and ferulic acid after Q-switched 1064-nm Nd:YAG laser for treatment of environment-induced skin pigmentat*ion. J Cosmet Dermatol. 2020;19(10):2576-82.
119. Pandel R, Poljšak B, Godic A, Dahmane R. *Skin photoaging and the role of antioxidants in its prevention*. ISRN Dermatol. 2013;2013:930164.
120. Boo YC. *Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to Increase Dermal Collagen for Skin Antiaging Purposes: Emerging Combination Therapies*. Antioxidants (Basel). 2022;11(9).
121. Tajima S, Pinnell SR. *Ascorbic acid preferentially enhances type I and III collagen gene transcription in human skin fibroblasts. Journal of Dermatological Science*. 1996;11(3):250-3.
122. Geesin JC, Darr D, Kaufman R, Murad S, Pinnell SR. *Ascorbic Acid Specifically Increases Type I and Type III Procollagen Messenger RNA Levels in Human Skin Fibroblasts*. Journal of Investigative Dermatology. 1988;90(4):420-4.
123. Murad S, Grove D, Lindberg KA, Reynolds G, Sivarajah A, Pinnell SR. *Regulation of collagen synthesis by ascorbic acid*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1981;78(5):2879-82.
124. Pinnell SR. *Regulation of collagen biosynthesis by ascorbic acid: a review*. Yale J Biol Med. 1985;58(6):553-9.
125. Pullar JM, Carr AC, Vissers MCM. *The Roles of Vitamin C in Skin Health*. Nutrients. 2017;9(8).
126. Wang K, Jiang H, Li W, Qiang M, Dong T, Li H. *Role of Vitamin C in Skin Diseases*. Front Physiol. 2018;9:819.
127. Zasada M, Markiewicz A, Drożdż Z, Mosińska P, Erkiert-Polguj A, Budzisz E. *Preliminary randomized controlled trial of antiaging effects of l-ascorbic acid applied in combination with no-needle and microneedle mesotherapy*. J Cosmet Dermatol. 2019;18(3):843-9.
128. Pinnell SR, Yang H, Omar M, Riviere NM, Debuys HV, Walker LC, et al. *Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies*. Dermatologic surgery. 2001;27(2):137-42.
129. Sheraz M, Khan M, Ahmed S, Kazi S, Ahmad I. *Stability and Stabilization of Ascorbic Acid*. Household & Personal Care Today. 2015;10:20-5.

130. Noszczyk M. *Kosmetologia stosowana - pielęgnacja codzienna skóry*. Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2011;150-2.

131. Pawlaczyk MK, K.; Rokowska-Waluch, A. *Vitamin C and the skin*. Farm Współ. 2012;5:174-8.

132. Telang PS. *Vitamin C in dermatology*. Indian Dermatol Online J. 2013;4(2):143-6.

133. Markiewicz A, Zasada M, Erkiert-Polguj A, Wieckowska-Szakiel M, Budzisz E. *An evaluation of the antiaging properties of strawberry hydrolysate treatment enriched with L-ascorbic acid applied with microneedle mesotherapy*. J Cosmet Dermatol. 2019;18(1):129-35.

134. Yun IS, Yoo HS, Kim YO, Rah DK. *Improved Scar Appearance With Combined Use of Silicone Gel and Vitamin C for Asian Patients: A Comparative Case Series*. Aesthetic Plastic Surgery. 2013;37(6):1176-81.

135. Jaros A, Zasada M, Budzisz E, Dębowska R, Gębczyńska-Rzepka M, Rotsztejn H. *Evaluation of selected skin parameters following the application of 5% vitamin C concentrate*. Journal of Cosmetic Dermatology. 2019;18(1):236-41.

136. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. *Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1993;90(17):7915-22.

137. Lin JY, Selim MA, Shea CR, Grichnik JM, Omar MM, Monteiro-Riviere NA, et al. *UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E*. J Am Acad Dermatol. 2003;48(6):866-74.

138. Farris P. *Cosmeceuticals. Procedures in Cosmetic Dermatology*. 2nd ed. New York: Saunders Elsevier. 2009;51-56.

139. Ando H, Kondoh H, Ichihashi M, Hearing VJ. *Approaches to identify inhibitors of melanin biosynthesis via the quality control of tyrosinase*. J Invest Dermatol. 2007;127(4):751-61.

140. Xu TH, Chen JZ, Li YH, Wu Y, Luo YJ, Gao XH, et al. *Split-face study of topical 23.8% L-ascorbic acid serum in treating photo-aged skin*. J Drugs Dermatol. 2012;11(1):51-6.

141. Hwang SW, Oh DJ, Lee D, Kim JW, Park SW. *Clinical efficacy of 25% L-ascorbic acid (C'ensil) in the treatment of melasma*. J Cutan Med Surg. 2009;13(2):74-81.

142. Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztejn H. *Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application*. Skin Pharmacology and Physiology. 2018;31(6):332-6.

143. Park HJ, Cho JH, Hong SH, Kim DH, Jung HY, Kang IK, et al. *Whitening and anti-wrinkle activities of ferulic acid isolated from Tetragonia tetragonioides in B16F10 melanoma and CCD-986sk fibroblast cells*. J Nat Med. 2018;72(1):127-35.

144. Maruyama H, Kawakami F, Lwin TT, Imai M, Shamsa F. *Biochemical Characterization of Ferulic Acid and Caffeic Acid Which Effectively Inhibit Melanin Synthesis via Different Mechanisms in B16 Melanoma Cells*. Biol Pharm Bull. 2018;41(5):806-10.

145. Anunciato Casarini TP, Frank LA, Pohlmann AR, Guterres SS. *Dermatological applications of the flavonoid phloretin*. European Journal of Pharmacology. 2020;889:173593.

146. Matthews-Brzozowska T, Łącka M, Bernacka M, Lichaj M. *Mesotherapy – a method of facial skin rejuvenation from an interdisciplinary perspective on improving facial aesthetics*. Journal of Medical Science. 2017;86(4):308-12.

147. Campos PM, Gonçalves GM, Gaspar LR. *In vitro antioxidant activity and in vivo efficacy of topical formulations containing vitamin C and its derivatives studied by non-invasive methods*. Skin Res Technol. 2008;14(3):376-80.

148. Savini I, Rossi A, Duranti G, Avigliano L, Catani MV, Melino G. *Characterization of Keratinocyte Differentiation Induced by Ascorbic Acid: Protein Kinase C Involvement and Vitamin C.* Homeostasis. Journal of Investigative Dermatology. 2002;118(2):372-9.

149. Janecka A. *Właściwości, formy i działanie biologiczne witaminy C w terapiach skórnych.* Aesthetic Cosmetology and Medicine. 2023(12):17-22.

150. Hinek A, Wang Y, Mitts TF. *Sodium L-ascorbate enhances elastic fibers deposition by fibroblasts from normal and pathologic human skin.* Journal of Dermatological Science. 2014. doi: 10.1016/j.jdermsci.2014.05.011.

151. Sauermann K, Jaspers S, Koop U, Wenck H. *Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin*. BMC Dermatol. 2004;4(1):13.

152. Boyera N, Galey I, Bernard BA. *Effect of vitamin C and its derivatives on collagen synthesis and cross-linking by normal human fibroblasts*. Int J Cosmet Sci. 1998;20(3):151-8.

153. Humbert PG, Haftek M, Creidi P, Lapière C, Nusgens B, Richard A, et al. *Topical ascorbic acid on photoaged skin. Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: double-blind study vs. placebo*. Exp Dermatol. 2003;12(3):237-44.

154. Pinnell SR, Yang H, Omar M, Monteiro-Riviere N, De Buys HV, Walker LC, et al. *Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies*. Dermatol Surg. 2001;27(2):137-42.

155. Humbert PG, Haftek M, Creidi P, Lapière C, Nusgens B, Richard A, et al. *Topical ascorbic acid on photoaged skin. Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: double-blind study vs. placebo*. Experimental dermatology. 2003;12(3):237-44.

156. Fitzpatrick RE, Rostan EF. *Double-blind, half-face study comparing topical vitamin C and vehicle for rejuvenation of photodamage*. Dermatologic surgery. 2002;28(3):231-6.

157. Nusgens BV, Humbert P, Rougier A, Colige AC, Haftek M, Lambert CA, et al. *Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis*. J Invest Dermatol. 2001;116(6):853-9.

158. Lee C, Yang H, Kim S, Kim M, Kang H, Kim N, et al. *Evaluation of the anti-wrinkle effect of an ascorbic acid-loaded dissolving microneedle patch via a double-blind, placebo-controlled clinical study*. Int J Cosmet Sci. 2016;38(4):375-81.

159. Escobar S, Valois A, Nielsen M, Closs B, Kerob D. *Effectiveness of a formulation containing peptides and vitamin C in treating signs of facial ageing: three clinical studies*. Int J Cosmet Sci. 2021;43(2):131-5.

160. Han L, Li J, Li J, Pan C, Xiao Y, Lan X, et al. *Activation of AMPK/Sirt3 pathway by phloretin reduces mitochondrial ROS in vascular endothelium by increasing the activity of MnSOD via deacetylation*. Food Funct. 2020;11(4):3073-83.

161. Yang CS, Landau JM, Huang M-T, Newmark HL. *Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. Annual review of nutrition.* 2001;21(1):381-406.

162. Fordham JB, Naqvi AR, Nares S. *Leukocyte production of inflammatory mediators is inhibited by the antioxidants phloretin, silymarin, hesperetin, and resveratrol*. Mediators Inflamm. 2014;2014:938712.

163. Barone E, Calabrese V, Mancuso C. *Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases*. Biogerontology. 2009;10(2):97-108.

164. Chauhan A, Singh S. *Comparative Analysis of Efficacy of Lactic Acid with Ferulic Peel (Combination Peel) Vs Ferulic Peel Alone as a Monotherapy for Photoaging*. Aesthetic Plast Surg. 2021;45(1):281-8.

165. Sultana R, Ravagna A, Mohmmad-Abdul H, Calabrese V, Butterfield DA. *Ferulic acid ethyl ester protects neurons against amyloid β-peptide (1–42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: relationship to antioxidant activity.* Journal of neurochemistry. 2005;92(4):749-58.

166. Panneerselvam L, Subbiah K, Arumugam A, Senapathy JG. *Ferulic acid modulates fluoride-induced oxidative hepatotoxicity in male Wistar rats*. Biol Trace Elem Res. 2013;151(1):85-91.

167. Staniforth V, Huang WC, Aravindaram K, Yang NS. *Ferulic acid, a phenolic phytochemical, inhibits UVB-induced matrix metalloproteinases in mouse skin via posttranslational mechanisms*. J Nutr Biochem. 2012;23(5):443-51.

168. Lin CM, Chiu JH, Wu IH, Wang BW, Pan CM, Chen YH. *Ferulic acid augments angiogenesis via VEGF, PDGF and HIF-1 alpha*. J Nutr Biochem. 2010;21(7):627-33.

169. Barreca D, Bellocco E, Laganà G, Ginestra G, Bisignano C. *Biochemical and antimicrobial activity of phloretin and its glycosilated derivatives present in apple and kumquat*. Food chemistry. 2014;160:292-7.

170. Chang W-T, Huang W-C, Liou C-J. *Evaluation of the anti-inflammatory effects of phloretin and phlorizin in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages*. Food Chemistry. 2012;134(2):972-9.

171. Oresajo C, Stephens T, Hino PD, Law RM, Yatskayer M, Foltis P, et al. *Protective effects of a topical antioxidant mixture containing vitamin C, ferulic acid, and phloretin against ultraviolet-induced photodamage in human skin*. J Cosmet Dermatol. 2008;7(4):290-7.

172. Shin S, Kum H, Ryu D, Kim M, Jung E, Park D. *Protective effects of a new phloretin derivative against UVB-induced damage in skin cell model and human volunteers*. International journal of molecular sciences. 2014;15(10):18919-40.

173. Anunciato Casarini TP, Frank LA, Pohlmann AR, Guterres SS. *Dermatological applications of the flavonoid phloretin*. Eur J Pharmacol. 2020;889:173593.

174. Farage MA. *How do perceptions of sensitive skin differ at different anatomical sites? An epidemiological study*. Clin Exp Dermatol. 2009;34(8):e521-30.

175. Cho HJ, Chung BY, Lee HB, Kim HO, Park CW, Lee CH. *Quantitative study of stratum corneum ceramides contents in patients with sensitive skin*. J Dermatol. 2012;39(3):295-300.

176. Farage MA. *The Prevalence of Sensitive Skin*. Front Med (Lausanne). 2019;6:98.

177. Misery L, Loser K, Ständer S. *Sensitive skin*. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2016;30 Suppl 1:2-8.

178.Frosch PJ, Kligman AM. *A method for appraising the stinging capacity of topically applied substances*. Journal of the Society of Cosmetic Chemists. 1977;28(5):197-20

179. Escobar S, Valois A, Nielsen M, Closs B, Kero D. *Effectiveness of a formulation containing peptides and vitamin C intreating signs of facial ageing: three clinical studies.* Intern J of Cosm Sci, 2021;43:131–135.

180. Darr D, Combs S, Dunston S, Manning T, Pinnell S. *Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage*. Br J Dermatol. 1992;127(3):247-253. doi:10.1111/j.1365-2133.1992.tb00122.x

181. Carlin, R. B., Carlin, C. S. *Topical vitamin C preparation reduces erythema of rosacea*. Cosmetic Dermatology-Cedar Knolls 2001;14(2):35-40.

XI. SPIS RYCIN, TABEL, WYKRESÓW, ZDJĘĆ I SCHEMATÓW

Rycina 1. Wzór strukturalny kwasu L-askorbinowego 16
Rycina 2. Struktura kwasu ferulowego 21
Rycina 3. Struktura chalkonu – floretyny 23
Rycina 4. Punkty pomiarowe 33

Tabela 1. Charakterystyka grup badawczych 30
Tabela 2. Porównanie stopnia redukcji zmian rumieniowych w poszczególnych grupach 39
Tabela 3. Wpływ terapii na pigmentację w grupie I 40
Tabela 4. Wpływ terapii na pigmentację w grupie II 40
Tabela 5. Wpływ terapii na nawilżenie w grupie I 42
Tabela 6. Wpływ terapii na nawilżenie w grupie III 42
Tabela 7. Wpływ terapii na transepidermalną utratę wody w grupie I 43
Tabela 8. Wpływ terapii na transepidermalną utratę wody w grupie III 44
Tabela 9. Wpływ terapii na zmianę parametru R1 w grupie I 45
Tabela 10. Wpływ terapii na zmianę parametru R2 w grupie I 45
Tabela 11. Wpływ terapii na zmianę parametru R5 w grupie I 45
Tabela 12. Wpływ terapii na zmianę parametru R1 w grupie II 46
Tabela 13. Wpływ terapii na zmianę parametru R2 w grupie II 46
Tabela 14. Wpływ terapii na zmianę parametru R5 w grupie II 46
Tabela 15. Wpływ terapii na zmianę parametru R2 w grupie III 47

Wykres 1. Wpływ terapii na redukcję zmian rumieniowych w grupie I 37
Wykres 2. Wpływ terapii na redukcję zmian rumieniowych w grupie II 38
Wykres 3. Wpływ terapii na redukcję zmian rumieniowych w grupie III 38
Wykres 4. Wpływ terapii na pigmentację w grupie III 40
Wykres 5. Wpływ terapii na nawilżenie w grupie II 42
Wykres 6. Wpływ terapii na transepidermalną utratę wody w grupie II 44

WYKRES 7. WPŁYW TERAPII NA ZMIANĘ PARAMETRU R1 W GRUPIE III 47
WYKRES 8. WPŁYW TERAPII NA ZMIANĘ PARAMETRU R5 W GRUPIE III 48
WYKRES 9. OCENA SKUTECZNOŚCI ZABIEGÓW W OCENIE OSÓB BADANYCH W GRUPIE I 49
WYKRES 10. OCENA SKUTECZNOŚCI ZABIEGÓW W OCENIE OSÓB BADANYCH W GRUPIE II ... 49
WYKRES 11. OCENA SKUTECZNOŚCI ZABIEGÓW W OCENIE OSÓB BADANYCH W GRUPIE III .. 50

ZDJĘCIE 1. EFEKT TERAPII RUMIENIA PO ZASTOSOWANIU ROZTWORU INIEKCYJNEGO ZAWIERAJĄCEGO 500 MG KWASU L-ASKORBINOWEGO ORAZ SONOFOREZY 39
ZDJĘCIE 2. EFEKT TERAPII PRZEBARWIEŃ PO ZASTOSOWANIU ROZTWORU INIEKCYJNEGO ZAWIERAJĄCEGO 500 MG KWASU L-ASKORBINOWEGO ORAZ SONOFOREZY 41
ZDJĘCIE 3. EFEKT TERAPII W GRUPIE I. 51
ZDJĘCIE 4. EFEKT TERAPII W GRUPIE I. 51
ZDJĘCIE 5. EFEKT TERAPII W GRUPIE I. 52
ZDJĘCIE 6. EFEKT TERAPII W GRUPIE II. 52
ZDJĘCIE 7. EFEKT TERAPII W GRUPIE II. 53
ZDJĘCIE 8. EFEKT TERAPII W GRUPIE II. 53
ZDJĘCIE 9. EFEKT TERAPII W GRUPIE II. 54
ZDJĘCIE 10. EFEKT TERAPII W GRUPIE II. 54
ZDJĘCIE 11. EFEKT TERAPII W GRUPIE III. 55
ZDJĘCIE 12. EFEKT TERAPII GRUPIE III. 55
ZDJĘCIE 13. EFEKT TERAPII W GRUPIE III. 56
ZDJĘCIE 14. EFEKT TERAPII W GRUPIE III. 56
ZDJĘCIE 15. EFEKT TERAPII W GRUPIE III. 57
ZDJĘCIE 16. EFEKT TERAPII W GRUPIE III. 57

SCHEMAT 1. DYSOCJACJA ELEKTROLITYCZNA WITAMINY C 16
SCHEMAT 2. SCHEMAT PRZEMIAN ANIONU ASKORBINOWEGO 17

XII. ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1. *Zgoda Komisji Bioetyki*

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM W ŁODZI
Pl. Hallera 1B, 90-647 Łódź, tel. 0 785 911 596, 42 272-52-43, *bioetyka@umed.lodz.pl*

UCHWAŁA
KOMISJI BIOETYCZNEJ O PROJEKCIE EKSPERYMENTU MEDYCZNEGO
Numer RNN/251/19/KE z dnia 14 maja 2019 r.
(przy korespondencji dotyczącej niniejszej decyzji prosimy powoływać się każdorazowo na powyższy numer i datę Uchwały)

Główny badacz i wykonawca:
Dr n.med. Anna Erkiert-Polguj, mgr Anna Jaros, Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, Salon Kosmetologiczny ARAD (Skin Masters) ul. Lipowa 15/17, 90-743 Łódź
Tytuł badania:
Działanie preparatów zawierających witaminę C na skórę naczyniową aplikowanych za pomocą różnych technik.

Na podstawie ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (t. j. Dz. U. z 2017 r. poz. 125, z późn. zm.), ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2016 r. poz. 2142 z późn. zm.), rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. z 2012 r., poz.491), ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. z 2017 r. poz. 211 ze zm.),rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. poz. 208), rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47 poz. 480), zarządzenia nr 8/2015 z 16 lutego 2015 r. Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w sprawie wprowadzenia Regulaminu pracy Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi oraz zarządzenia nr 57/2017 z dnia 5 września 2017 r. Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w sprawie powołania Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi po przeanalizowaniu wniosku, zapoznaniu się z projektem opinii dotyczącej zgłoszonego badania, w głosowaniu tajnym,
Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (wypełniając zobowiązania ICH GCP) uchwala, co następuje:

§ 1

1. Opiniuje wniosek **pozytywne, bez zastrzeżeń** , na podstawie złożonych dokumentów, których wykaz określa załącznik nr 1. Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

§ 2

Opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku z uwzględnieniem przedstawionego projektu. Każda zmiana i modyfikacja wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca zobowiązany jest do informowania o wszelkich poprawkach, zdarzeniach niepożądanych oraz nieprzewidzianych okolicznościach.

Odwołanie od niniejszej uchwały wnosi się za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi do Odwoławczej Komisji Bioetycznej, w terminie 14 dni od dnia otrzymania uchwały wyrażającej opinię.

Przewodniczący Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi

prof. dr hab. n. med. Józef Drzewoski

Lista obecności na posiedzeniu Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi

w dniu 14 maja 2019 r.

Lp.	Imię i nazwisko	Zawód, specjalność	Miejsce pracy	Podpis
1.	Prof. dr hab. n. med. Józef Drzewoski Przewodniczący Komisji	Lekarz medycyny, internista, diabetolog farmakolog kliniczny	Emerytowany profesor Uniwersytetu Medycznego w Łodzi	
2.	Ks. dr hab. Jan Wolski Z-ca Przewodniczącego Komisji	Duchowny, bioetyk	Wyższe Seminarium Duchowne w Łodzi	
3.	Prof. dr hab. n. med. Andrzej Głąbiński	Lekarz medycyny, neurolog	Klinika Neurologii i Udarów Mózgu UM w Łodzi	
4.	Prof. dr hab. n. med. Iwona Kłoszewska	Lekarz medycyny psychiatra	Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych UM w Łodzi	
5.	Dr n.med. Maja Kufelnicka- Babout	Lekarz medycyny położnik, ginekolog	Klinika Perinatologii, I Katedry Ginekologii i Położnictwa UM w Łodzi	
6.	Prof. dr hab. n. med. Janusz Piekarski	Lekarz medycyny, chirurg onkolog	Klinika Chirurgii Onkologicznej UM w Łodzi	nb usprr.
7.	Prof. dr hab. n. med. Henryk Stępień	Lekarz medycyny, endokrynologia	Zakład Immunoendokrynologii UM w Łodzi	
8.	Dr hab. n. med. prof. nadzw. Marta Woldańska-Okońska	Rehabilitacja medyczna	Klinika Rehabilitacji i Medycyny Fizykalnej UM w Łodzi	
9.	Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Zeman	Lekarz medycyny, pediatria, immunologia kliniczna	Klinika Pediatrii, Kardiologii Prewencyjnej i Immunologii Wieku Rozwojowego UM w Łodzi	
10.	Dr n. prawn. Rafał Budzisz	Prawnik	Uniwersytet Łódzki w Łodzi	
11.	Mgr Elżbieta Kubańska	Pielęgniarka	Pracownik emerytowany	nb usprr.
12.	Mgr Elżbieta Piotrowska-Rutkowska	Farmaceutka	Naczelna Izba Aptekarska, ul. Długa 16 w Warszawie	
13.	Dr n. med. Elżbieta Jaszczuk	Lekarz medycyny, anestezjologia i intensywna terapia	Przedstawicielka Okręgowej Rady Lekarskiej w Łodzi	

ZAŁĄCZNIK Nr 1 DO UCHWAŁY
KOMISJI BIOETYCZNEJ O PROJEKCIE EKSPERYMENTU MEDYCZNEGO
Numer RNN/251/19/KE z dnia 14 maja 2019 r.
(przy korespondencji dotyczącej niniejszej decyzji prosimy powoływać się każdorazowo na powyższy numer i datę Uchwały)

Główny badacz i wykonawca:
Dr n.med. Anna Erkiert-Polguj, mgr Anna Jaros, Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, Salon Kosmetologiczny ARAD (Skin Masters) ul. Lipowa 15/17, 90-743 Łódź
Tytuł badania:
Działanie preparatów zawierających witaminę C na skórę naczyniową aplikowanych za pomocą różnych technik.

Do Komisji wpłynęły następujące dokumenty:
1. Wniosek do Komisji Bioetycznej
2. Protokół badania
3. Informacja dla badanych
4. Formularz świadomej zgody badanego
5. Wzór ankiety
6. Wykaz ośrodków biorących udział w badaniu
7. Życiorysy: dr n.med. Anna Erkiert-Polguj, mgr Anna Jaros
8. Zgoda kierownika Zakładu Chemii Surowców Kosmetycznych UM w Łodzi

Przewodniczący Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi

prof. dr hab. n. med. Józef Drzewoski

Załącznik 2. *Porównanie statystyczne skuteczności mezoterapii igłowej (prawa strona) oraz sonoforezy (lewa strona)*

Grupa I

Tabela 1. Pigmentacja (% zmiany względem Pomiar I)

Pigmentacja	Miejsce pomiaru	Strona		P
		lewa	Prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-3.8 (-9.9; 9.0)	-3.5 (-10.8; 9.7)	P=0.749
	Policzek	3.7 (-6.7; 15.0)	2.7 (-14.6; 25.1)	P=0.846
Pomiar III względem I	Czoło	-2.5 (-16.3; 7.5)	-3.5 (-13.0; 5.8)	P=0.977
	Policzek	-7.2 (-18.8; 15.7)	2.8 (-19.7; 31.0)	P=0.479

Tabela 2. Rumień (% zmiany względem Pomiar I)

Rumień	Miejsce pomiaru	Strona		P
		lewa	Prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-13.0 (-22.6; 3.0)	-8.9 (-19.9; -1.7)	P=0.705
	Policzek	-21.0 (-36.3; -13.8)	-26.1 (-30.5; -11.2)	P=0.727
Pomiar III względem I	Czoło	-22.3 (-33.8; 0.2)	-14.3 (-26.8; 3.1)	P=0.337
	Policzek	-33.2 (-45.6; -22.9)	-32.7 (-43.2; -24.0)	P>0.999

Tabela 3. Nawilżenie (% zmiany względem Pomiar I)

Nawilżenie	Miejsce pomiaru	Strona		P
		lewa	Prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-3.4 (-15.3; 10.4)	1.6 (-15.9; 13.4)	P=0.467
	Policzek	0 (-11.6; 11.0)	6.8 (-11.7; 25.7)	P=0.317
Pomiar III względem I	Czoło	-3.6 (-16.9; 15.0)	-6.2 (-20.0; 15.5)	P=0.778
	Policzek	-1.5 (-11.8; 18.3)	0 (-16.4; 18.3)	P=0.839

Tabela 4. TEWL (% zmiany względem Pomiar I)

TEWL	Miejsce pomiaru	Strona		P
		Lewa	Prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-12.5 (-28.3; 13.8)	0 (-33.9; 50.5)	P=0.308
	Policzek	-10.0 (-37.4; 33.9)	-10.5 (-37.4; 13.1)	P=0.923
Pomiar III względem I	Czoło	-21.6 (-37.6; 4.1)	-9.1 (-41.6; 19.8)	P=0.669
	Policzek	-10.0 (-33.9; 8.9)	-25.0 (-43.4; 10.6)	P=0.662

Statistical analysis

The mean and standard deviation (mean±SD) was applied as appropriate for description of parameters with normal distribution. Variables that were not normally distributed were expressed as median and interquartile range (median (25%; 75%)). The assumption of normality was assessed by the use of Shapiro-Wilk test. One-way repeated measures ANOVA (with either Greenhouse-Geisser or Huynh-Feldt correction for sphericity when appropriate) followed by Bonferroni post hoc tests was performed for statistical evaluation of differences in normally distributed parameters of skin over time. For skin parameters departed from normality Friedman test was performed. Differences in percentage changes of skin parameters compared to baseline values between sonophoresis and microneedle mesotherapy treated skin were compared according to the Mann-Whitney test. P values of less than 0.05 were considered as statistically significant.

Grupa II

Tabela 1. Pigmentacja (% zmiany względem Pomiar I)

Pigmentacja	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		lewa	prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-2.4 (-5.0; 6.7)	-6.4 (-10.6; 1.8)	P=0.049
	Policzek	-2.2 (-12.1; 3.9)	-3.5 (-13.8; 18.4)	NS (P=0.769)

Tabela 2. Rumień (% zmiany względem Pomiar I)

Rumień	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		lewa	prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-15.6 (-22.6; -3.4)	-16.5 (-24.8; -2.0)	NS (P=0.707)
	Policzek	-27.2 (-32.8; -18.8)	-24.9 (-34.9; -14.2)	NS (P=0.653)

Tabela 3. Nawilżenie (% zmiany względem Pomiar I)

Nawilżenie	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		lewa	prawa	

Pomiar II względem I	Czoło	-1.6 (-6.6; 23.0)	2.5 (-11.4; 13.8)	NS (P=0.888)
	Policzek	15.9 (1.6; 47.0)	36.3 (8.3; 73.0)	NS (P=0.156)

Tabela 4. TEWL (% zmiany względem Pomiar I)

TEWL	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		lewa	prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-11.9 (-20.3; -7.1)	-13.9 (-20.9; 0)	NS (P=0.925)
	Policzek	-13.9 (-27.3; -8.0)	-20.7 (-29.1; -7.7)	NS (P=0.573)

NS (Not significant)

Statistical analysis

The mean and standard deviation (mean±SD) was applied as appropriate for description of parameters with normal distribution. Variables that were not normally distributed were expressed as median and interquartile range (median (25%; 75%)). Paired t test for normally distributed data and Wilcoxon signed ranks test for data departed from normality was performed for statistical evaluation of differences in skin parameters over time. Differences in percentage changes of skin parameters compared to baseline values ($([x(t_1)-x(t_0)]/x(t_0))*100$) between two treatment algoritms were compared according to the Mann-Whitney test. Statistical evaluation of categorical variables was performed by chi-square tests (with Yates' correction if needed). P values of less than 0.05 were considered as statistically significant.

Grupa III

Tabela 1. Pigmentacja (% zmiany względem Pomiar I)

Pigmentacja	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		Lewa	prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-3.1 (-7.2; 0.2)	-3.5 (-16.4; 0)	NS (P=0.313)
	Policzek	-9.7 (-26.3; 2.5)	-4.1 (-21.3; 0)	NS (P=0.479)

Tabela 2. Rumień (% zmiany względem Pomiar I)

Rumień	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		Lewa	Prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-8.8 (-20.0; -0.5)	-9.8 (-18.4; -4.7)	NS (P=0.749)
	Policzek	-19.3 (-33.8; -11.8)	-23.5 (-33.2; -12.6)	NS (P=0.705)

Tabela 3. Nawilżenie (% zmiany względem Pomiar I)

Nawilżenie	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		Lewa	prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	0.7 (-9.1; 11.5)	5.0 (-8.4; 28.3)	NS (P=0.410)
	Policzek	14.0 (-2.9; 35.8)	26.7 (-5.3; 37.5)	NS (P=0.915)

Tabela 4. TEWL (% zmiany względem Pomiar I)

TEWL	Miejsce pomiaru	Strona		Istotność (P)
		Lewa	Prawa	
Pomiar II względem I	Czoło	-11.1 (-16.7; -5.0)	-8.3 (-16.7; -4.2)	NS (P=0.621)
	Policzek	-5.6 (-12.5; 1.7)	-11.5 (-20.0; -2.9)	NS (P=0.109)

NS (Not significant)

Statistical analysis

The mean and standard deviation (mean±SD) or median and interquartile range (median (25%; 75%)) was applied as appropriate for description of parameters. Changes of skin parameters compared to baseline were calculated based on the following formula: $(([x(t_1)-x(t_0)]/x(t_0))*100)$. Paired t test for normally distributed data and Wilcoxon signed ranks test for data departed from normality was performed for statistical evaluation of differences in skin parameters over time. Mann-Whitney test was used for unpaired data deviating from the normal distribution. P values of less than 0.05 were considered as statistically significant.

Załącznik 3. *Formularz świadomej zgody*

Działanie preparatów zawierających witaminę C na skórę naczyniową aplikowanych za pomocą różnych technik.

Formularza świadomej zgody badanego *udział w badaniu pt.: Działanie preparatów zawierających witaminę C na skórę naczyniową aplikowanych za pomocą różnych technik.*

Ja .....oświadczam, że otrzymał /em/am i zapoznał /em/am się z treścią informacji dla badanego. Przeprowadzając /y/a badanie udzielił /a mi wyczerpujących odpowiedzi na moje pytania. Jestem wystarczająco poinformowany /a.

Świadomie i dobrowolnie wyrażam zgodę na wykonanie zabiegu na skórę twarzy, szyi i dekoltu z użyciem preparatów zawierających witaminę C..... metodą..... oraz zgadzam się na wykonanie pomiarów i zdjęć przed pierwszym zabiegiem, po każdym kolejnym oraz po zakończeniu terapii.

Jestem świadomy/a, że mogę wycofać swoją zgodę w dowolnej chwili bez wpływu na opiekę lekarską jakiej będę potrzebować.

Akceptuję warunki ubezpieczenia na wypadek szkody powstałej w związku z uczestnictwem w badaniu.

Zgadzam się na przetwarzanie moich danych osobowych zgodnie z ustawą o ich ochronie.

Podpis badanego

Łódź, dnia_____

Załącznik 4. *Ankieta wstępna*

ANKIETA WSTĘPNA

Imię i nazwisko……..

Data urodzenia……..

Wiek…….

1. Od jak dawna boryka się Pani z problemem skóry rumieniowej?
   ……..
2. Proszę określić rodzaj swojej skóry:
   a) Sucha
   b) Mieszana
   c) Tłusta
3. Proszę określić jak Pani skóra reaguje na ekspozycje na promieniowanie UV:
   a) Skóra bardzo jasna, opala się na czerwono
   b) Skóra jasna , opala się na czerwono, ale później brązowieje
   c) Skóra śniada, szybko się opala, od razu na brązowo
4. Co wg. Pani było przyczyną pojawienia się zmian rumieniowych:
   a) Ciąża
   b) Terapia farmakologiczna
   c) Poparzenia słoneczne
   d) Nieodpowiednia pielęgnacja
   e) Zmiany są genetyczne
   f) Inne (proszę podać jakie) ……
5. Proszę wskazać czy Pani skóra reaguje wzmożonym rumieniem na:
   a) Alkohol
   b) Ostre potrawy
   c) Ekspozycja na promieniowanie UV
   d) Stres
   e) Nagła zmiana temperatury
   f) Czynniki pokarmowe
   g) Leki
   h) Wysiłek fizyczny
   i) Sauna
   j) inne
6. Czy w codziennej pielęgnacji stosuje Pani kremy z filtrem o minimalnym SPF 30?
   a) Tak
   b) Nie
7. Czy przyjmuje Pani jakieś leki na stałe?
   a) Nie
   b) Tak, jeśli tak proszę wpisać jakie……

8. Czy korzystała Pani z zabiegów na skórę rumieniową w salonie kosmetycznym?
    a) Nie, nigdy
    b) Tak, pojedyncze nieregularne zabiegi
    c) Tak, przeszłam całą serię zabiegową
9. Proszę określić jak często narażona jest Pani na czynniki zewnętrzne, które powodują wzmożony rumień?
    a) Rzadko- kilka razy w miesiącu
    b) Często- kilka razy w tygodniu
    c) Codziennie
10. Czy zdiagnozowano u Pani którąś z poniższych jednostek chorobowych?
    a) Atopowe zapalenie skóry
    b) Łojotokowe zapalenie skóry
    c) Trądzik różowaty
    d) Kontaktowe zapalenie skóry
    e) Łuszczyca
    f) Toczeń rumieniowaty skórny
11. Proszę wskazać jakie ma Pani zazwyczaj ciśnienie:
    a) Niskie
    b) Wysokie
    c) W normie
12. Czy zdiagnozowano u Pani problemy z tarczycą?
    a) Nie
    b) Tak, jeśli tak proszę wpisać jaką jednostkę chorobową zdiagnozowano
    ……..
13. Czy przechodziła już Pani terapię na bazie witaminy C aplikowanej na skórę?
    a) Tak
    b) Nie

Załącznik 5. *Ankieta końcowa*

Osoby badane wypełniały na końcu badania dwie niżej zamieszczone ankiety. Jedna dotyczyła strony prawej, a druga strony lewej.

Imię i nazwisko…….

Ankieta dotyczy **PRAWEJ** strony twarzy

1. Czy widzi pani poprawę stanu skóry po serii zabiegowej
   a) Tak
   b) Nie
2. Czy zauważyła Pani zredukowanie zmian rumieniowych? Proszę zaznaczyć na sakli w jakim stopniu.

   Brak poprawy 0--------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5---------6 – Duża poprawa

3. Czy zauważyła pani rozjaśnienie skóry? Proszę zaznaczyć na skali w jakim stopniu.

   Brak poprawy 0--------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5---------6 – Duża poprawa

4. Czy zauważyła Pani poprawę elastyczności skóry? Proszę zaznaczyć na skali w jaki stopniu.

   Brak poprawy -0--------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5--------6 – Duża poprawa

5. Czy zauważyła Pani poprawę gęstości skóry? Proszę zaznaczyć na skali w jaki stopniu.

   Brak poprawy -0--------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5--------6 – Duża poprawa

6. Czy zauważyła Pani ogólną poprawę stanu skóry? Proszę zaznaczyć na skali w jakim stopniu.

   Brak poprawy -0------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5-------6 – Duża poprawa

7. Czy zauważyła Pani zmniejszenie ilości zmian grudkowo krostkowych? Proszę zaznaczyć w jaki stopniu. Jeśli na skórze w ogóle nie występują zmiany grudkowo krostkowe proszę o zaznaczenie odpowiedzi" nie dotyczy"

- Nie dotyczy

Brak poprawy 0--------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5---------6 – Duża poprawa

8. Czy zauważyła pani zwiększone nawilżenie skóry? Proszę zaznaczyć na skali w jakim stopniu.

   Brak poprawy 0---------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5----------6 – Duża poprawa

9. Czy skóra stała się mniej reaktywna pod wpływem niżej wymienionych czynników. Proszę znaczyć na skali jakim stopniu.

a) Zmiana temperatury otoczenia
   Brak poprawy 0------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5----------6 – Duża poprawa
b) Wysyłek fizyczny
   Brak poprawy -0------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5---------6 – Duża poprawa
c) Alkohol i ostre potrawy
   Brak poprawy -0------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5 --------6 Duża poprawa

d) Stres
   Brak poprawy 0--------- 1 ------ 2 ------- 3 -------- 4 --------- 5 ----------6– Duża poprawa

10. Czy po zabiegach odczuwała Pani dyskomfort na skórze?
    a) Nie
    b) Tak, proszę wymienić jakiego rodzaju były to odczucia
       ……
11. Po którym zabiegu zauważyła Pani **największą** poprawę stanu skóry?
    a) Po pierwszym
    b) Po drugim
    c) Po trzecim
    d) Po czwartym
    e) Po piątym
    f) Po szóstym
12. Po którym zabiegu zauważyła Pani **pierwszą** poprawę stanu skóry
    a) Po pierwszym
    b) Po drugim
    c) Po trzecim
    d) Po czwartym
    e) Po piątym
    f) Po szóstym

13. Czy w trakcie trwania kuracji stosowała Pani w codziennej pielęgnacji krem z filtrem o minimalnym spf 30
    a) Nie
    b) Tak

14. Czy zaobserwowała Pani jakieś niepożądane reakcje skórne podczas trwania kuracji?
    a) Tak, jeśli tak to proszę opisać jakie……
       ……
       ……
    b) Nie

15. Czy skóra bezpośrednio po zabiegu była podrażniona?
    a) Tak
    b) Nie

16. Jak długo skóra po zabiegu była podrażniona
    a) Skóra w ogóle nie była podrażniona
    b) Kilka minut
    c) Kilka godzin
    d) 1-2 dni
    e) Tydzień lub więcej

17. Czy po każdym zabiegu skóra reagowała tak samo
    a) Tak
    b) Nie

18. Czy po zabiegu na skórze zauważalne było:
    a) Delikatne złuszczanie
    b) Szorstkość
    c) Zaczerwienienie
    d) inne

Załącznik 6. ***Publikacja grupa I***

UMEDICAL REPORTS

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF ASCORBIC AND FERULIC ACID PREPARATIONS IN THE TREATMENT OF ERYTHEMA BY MICRONEEDLE MESOTHERAPY AND SONOPHORESIS

KWAS ASKORBINOWY Z KWASEM FERULOWYM APLIKOWANY METODĄ MEZOTERAPII MIKROIGLOWEJ I SONOFOREZY W REDUKCJI RUMIENIA – OCENA EFEKTYWNOŚCI

Anna Jaros[1], Elżbieta Budzisz[1], Anna Erkiert-Polguj[2*]

[1] Department of Cosmetic Raw Materials Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, elzbieta.budzisz@umed.lodz.pl

[2] Department of Cosmetology and Aesthetic Dermatology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz

* anna.erkiert-polguj@umed.lodz.pl

Abstract: Vitamin C is essential for the proper functioning of the skin. Addition of ferulic acid (0.5%) and lowering the pH below 3.5 increases the stability and permeability of vitamin C in the form of L-ascorbic acid.

The aim of this study was to evaluate whether 20% vitamin C (pH 3.0) applied by microneedle mesotherapy (0.2 mm) (right side of the face) and sonophoresis (left side of the face) improves skin condition in patients with erythema.

Six treatment series were performed at approximately two-week intervals. Skin condition was evaluated both before treatment and after the third and sixth session. Changes in erythema severity, pigmentation changes as well as hydration and transepidermal water loss (TEWL) were measured and changes in skin elasticity were examined using the Cutometer.

The formulation, when applied by both mesotherapy and sonophoresis, was found to significantly reduce the signs of erythema. It was observed that only vitamin C application with microneedling was associated with a significant improvement in elasticity.

Vitamin C in the form of L-ascorbic acid (pH 3.0) stabilized with 0.5% ferulic acid and applied using microneedle mesotherapy or sonophoresis is effective in the treatment of erythematous skin, causing no side effects.

Keywords: erythema, ascorbic acid, ferulic acid, microneedling, sonophoresis

Streszczenie: Witamina C jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania skóry. W preparatach kosmetycznych dodanie do kwasu L-askorbinowego kwasu ferulowego (0,5%) i obniżenie pH poniżej 3,5 wzmacnia przenikalność i stabilność witaminy C.

Celem pracy była ocena parametrów skóry i redukcji rumienia po zabiegach z 20% witaminą C (pH 3,0) aplikowanej przy użyciu mezoterapii mikroigłwej (0,2 mm) po stronie prawej twarzy oraz sonoforezy po stronie lewej. Wykonano 6 zabiegów co 2 tygodnie, a pomiary dokonano przed serią zabiegową, po 3-cim i po 6-tym zabiegu. Oceniano nasilenie rumienia, zabarwienie skóry, nawilżenie, przeznaskórkową utratę wody (TEWL) oraz elastyczność skóry oceniana przy wykorzystaniu Cutometru.

Obydwie metody aplikacji witaminy C spowodowały istotną redukcję rumienia, natomiast elastyczność uległa istotnej poprawie jedynie po zastosowaniu mikronakłuwania z witaminą C.

Witamina C w formie kwasu L-askorbinowego (pH 3,0) stabilizowana 0,5% kwasem ferulowym i aplikowana z wykorzystaniem mezoterapii mikroigłowej czy sonoforezy jest skuteczna w redukcji rumienia i zabiegi te nie powodują istotnych objawów ubocznych.

Słowa kluczowe: rumień, kwas askorbinowy, kwas ferulowy, mikronakłuwane, sonoforeza

Introduction

There are several active forms of vitamin C, yet its greatest bioactivity is demonstrated by L-ascorbic acid (Al-Niaimi and Chiang, 2017). It is a vital nutrient for the skin essential for maintaining its normal structure and function. It also plays an important role in the biosynthesis of collagen, thanks to which it exerts anti-aging properties (Choi et al., 2020; Gęgotek et al., 2020). Application of a stable aqueous solution of 15% L-ascorbic acid ensures solid protection against solar erythema (Lin et al., 2003). Unfortunately, L-ascorbic acid is a hydrophilic and highly unstable molecule (Al-Niaimi and Chiang, 2017). Its topical application is limited due to poor penetration of this charged molecule deep into the skin through the hydrophobic stratum corneum, as well as due to low concentrations contained in cosmeceutical preparations and poor stability in contact with air and light (Burke, 2007; Pinnell et al., 2001). According to studies, lowering the pH of L-ascorbic acid to a value below 3.5 increases its stability and permeability as it allows the conversion of the charged molecule to an uncharged form (Lin et al., 2005). Furthermore, it has been shown that ferulic acid improves the stability of vitamin C and helps to obtain pH below 3.5. Modern cosmetology is constantly searching for methods of transepidermal transportation which would facilitate deeper penetration of active substances with marginal risk of side effects (Al-Niaimi and Chiang, 2017). Microneedle mesotherapy as well as sonophoresis have been proved to be techniques ensuring effective delivery of active substances. The former involves mechanical puncturing of the skin with the use of thin needles, thus interrupting the skin's continuity and injecting the substance, which triggers local inflammation and activates the body's self-repair mechanisms, including stimulation of collagen, hyaluronic acid and elastin synthesis (Al-Niaimi and Chiang 2017; Brandi et al., 2018; Lacarrubba et al., 2008). Therefore, the use of microneedle mesotherapy can also improve the effects of active substances on skin elasticity, firmness, hydration level, and tone (Zasada et al., 2019). In turn, sonophoresis uses acoustic cavitation generated by ultrasound waves, which results in increased skin permeability (Chen et al., 2016; Ueda et al., 2009). This ultrasound-assisted transdermal application is less invasive and less painful as compared to traditional injections.

According to some studies, only about 12.4% of ascorbic acid pass through the stratum corneum barrier within 72 hours (Chen et al., 2016; Pinnell et al., 2001). Therefore, it is important to use stable vitamin C preparations and appropriate methods of its delivery. Due to the fact that there are not many clinical studies on the effectiveness of different preparations of vitamin C applied topically to human skin, we decided to analyze the effects of applying vitamin C with two different methods. The aim of this study was to evaluate whether 20% vitamin C (pH 3.0) applied by the above-mentioned methods improves the skin condition in patients with erythema.

1. Materials and methods

The study was based on twenty-five healthy female volunteers, aged 24-63 years, with visible face erythema. Exclusion criteria were as follows: active viral lesions on the face and active fungal and bacterial diseases, pregnancy and lactation, and undergoing skin lightening therapies during the study. A product containing 20% L-ascorbic acid (pH =3.0) and 0.5% ferulic acid, which served as the product stabilizer, was applied to facial skin using microneedle mesotherapy (0.2 mm) (right side of face) and sonophoresis (left side of face). Six treatment series were performed with approximately two-week intervals. Skin condition was evaluated before the treatment as well as after the third and sixth session. Changes in erythema intensity, pigmentation changes as well as hydration and transepidermal water loss (TEWL) were measured using the MPA 580 (Courage & Khazaka Electronic GmbH, Cologne, Germany). Measurements were performed in the same location in stable conditions (temperature 20°C and humidity 45% + 5%) after a 15-minute acclimatization of the participants to ambient conditions. Other skin parameters were also evaluated with the Cutometer®. This study focused on the following parameters: the ability of the skin to return to its original state (R1), gross elasticity (R2), and net elasticity (R5). All the participants also filled in a questionnaire containing questions regarding their

subjective assessment of the observed skin changes. The results during and after the treatment were compared to those prior to the procedure.

The study was conducted in accordance with the guidelines of the Helsinki Declaration of 1964 and its subsequent amendments, and was approved by the Bioethics Committee of the Medical University. All the women participating in the study signed an informed consent form and agreed to undergo the therapy.

Statistical analysis

The mean and standard deviation (mean ± SD) were used to describe parameters with normal distribution, respectively. The assumption of normality was evaluated using the Shapiro-Wilk test. Variables not normally distributed were expressed as a median and interquartile range (median (25%; 75%)). For data showing no deviation from normality and equal variance, the standard t test was applied. In other cases, the Mann-Whitney U test was performed. For repeated measures, paired t test (two groups) and one-way ANOVA (more than two groups) with correction for sphericity (Greenhouse-Geisser or Huynh-Feldt) followed by Bonferroni post hoc tests were used to statistically evaluate differences in normally distributed skin parameters over time. For skin parameters deviating from normality, Wilcoxon test and Friedman test were performed. Differences in percentage changes of skin parameters from the baseline values between mesotherapy- and sonophoresis-treated skin were compared using the Mann-Whitney test. P values less than 0.05 were considered statistically significant. Statistical evaluation of categorical variables was performed using chi-square tests (with Yates correction as appropriate).

2. Results

The mean age of the participants was 41.19 ± 13.19 years. A majority of participants (72%) had phototype I and II while the remaining group had phototype III. Rosacea was previously diagnosed in 20% of the subjects. According to the participants themselves, their problems with erythema were most often genetic (48%), related to improper skin care (32%) or pharmacotherapy (12%). Among factors aggravating redness, the respondents mainly indicated physical exertion (84%), alcohol (76%), sudden temperature change (72%), stress (60%), and spicy food (56%). Despite problems with skin redness, only 20% of the respondents had made any attempts to solve/mitigate the problem in the past.

In the present study, it was observed that the application of a preparation containing 20% vitamin C and ferulic acid, both using mesotherapy and sonophoresis, significantly reduced the signs of erythema. A significant reduction was observed already after the third session. Table 1 shows the obtained results.

Table 1. Effects of the application of 20% vitamin C and ferulic acid using mesotherapy (right side of face) and sonophoresis (left side of face) on the severity of erythema.

Erythema / Application method	Measurement site	Measurement time point			P
		Measurement I (before treatment)	Measurement II (after 3 sessions)	Measurement III (after 6 sessions)	
Left side (sonophoresis)	Front	308.2±98.5	284.1±65.4	*257.6±69.7##	**0.018**
	Cheek	426.2±77.0	***319.3±81.2	***276.9±91,0#	**<0.0001**
Right side (mesotherapy)	Front	297.2±72.4	*267.4±64.1	**257.1±68.9	**0.001**
	Cheek	416.4±81.1	***319.1±71.0	***271.0±83.7##	**<0.0001**

*p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 vs measurement I

#p<0.05; ##p<0.01 vs measurement II

An analysis of the results on other skin parameters showed that the treatment had no effect on sebum secretion or skin pigmentation. The probands did not have seborrhea or pigmentation problems at baseline. The results of the statistical analysis in the latter case are shown in Table 2.

Table 2. Effects of the application of 20% vitamin C and ferulic acid using mesotherapy and sonophoresis on skin pigmentation.

Pigmentation / Application method	Measurement site	Measurement time point			P
		Measurement I (before treatment)	Measurement II (after 3 sessions)	Measurement III (after 6 sessions)	
Left side (sonophoresis)	Front	140.6±±33.2	140.4±27.1	132.4±23.0	0.127
	Cheek	110.8±34.1	117.4±26.6	107.2±23.1	0.122
Right side (mesotherapy)	Front	138.1±33.8	135.6±30.4	132.9±33.9	0.374
	Cheek	112.0±50.3	111.7±34.0	110.4±27.4	0.935

There were no statistically significant differences in skin hydration or transepidermal water loss before and after all the sessions either. According to the guidelines given by the manufacturer of the MPA device, TWEL and hydration measurements at baseline and after the treatment series were normal (Table 3).

Table 3. Effects of the application of 20% vitamin C and ferulic acid with mesotherapy and sonophoresis on skin hydration and transepidermal water loss (TEWL).

Hydration / Application method	Measurement site	Measurement time point			P
		Measurement I (before treatment)	Measurement II (after 3 sessions)	Measurement III (after 6 sessions)	
Left side (sonophoresis)	Front	65.8±17.1	62.4±12.7	63.8±13.2	0.425
	Cheek	61.0±17.8	59.3±16.9	57.9±13.6	0.555
Right side (mesotherapy)	Front	66.0±15.4	64.4±10.0	63.3±13.3	0.593
	Cheek	53.4±15.2	54.4±14.9	53.5±14.0	0.922
TEWL / **Application method**	**Measurement site**	**Measurement time point**			**P**
		Measurement I (before treatment)	**Measurement II (after 3 sessions)**	**Measurement III (after 6 sessions)**	
Left side (sonophoresis)	Front	15.0 (12.0; 33.5)	14.0 (10.2; 20.0)	13.9 (10.0; 16.0)	0.336
	Cheek	14.0 (11.2; 19.0)	12.0 (10.0; 18.0)	12.4 (10.0; 18.0)	0.186
Right side (mesotherapy)	Front	14.0 (11.0; 35.0)	12.0 (10.7; 22.3)	12.0 (10.3; 17.0)	0.575
	Cheek	15.0 (10.5; 20.0)	12.5 (9.5; 17.0)	11.6 (9.2; 15.0)	0.091

In this study, we used the Cutometer® to assess skin elasticity and how it changed after the treatment series. We evaluated the mechanical skin parameters R1, R2 and R5 derived from a single suction. The R1 parameter provides data on the skin's ability to return to its original state, R2 indicates gross elasticity, while R5 - net elasticity. We observed that only the application of vitamin C with the use of mesotherapy was associated with a significant improvement of the R1 parameter and only on cheeks. Moreover, combination of 20% vitamin C with ferulic acid with mesotherapy resulted in improvement of R2 and R5 parameters, both on the forehead and cheeks. The use of sonophoresis to administer the test product was effective in improving the overall elasticity on both the cheeks and forehead. The results obtained are summarized in Table 4.

Table 4. Effects of the application of 20% vitamin C and ferulic acid with mesotherapy and sonophoresis on skin parameters including R1, R2 and R5.

R1 / Application Method	Measurement site	Measurement time point		
		Measurement I (before treatment)	Measurement III (after 6 sessions)	P
Left side (sonophoresis)	Front	0.036 (0.025; 0.049)	0.021 (0.015; 0.026)	0.161
	Cheek	0.040 (0.029; 0.060)	0.033 (0.027; 0.043)	0.092
Right side (mesotherapy)	Front	0.031 (0.024; 0.044)	0.026 (0.019; 0.035)	0.126
	Cheek	0.044 (0.038; 0.049)	0.037 (0.030; 0.041)	**0.021**
R2 / **Application method**	**Measurement site**	**Measurement time point**		
		Measurement I (before treatment)	**Measurement III (after 6 sessions)**	**P**
Left side (sonophoresis)	Front	0.556±0.193	0.711±0.193	**0.039**
	Cheek	0.469±0.117	0.551±0.071	**0.024**
Right side (mesotherapy)	Front	0.534±0.223	0.628±0.182	**0.034**
	Cheek	0.477±0.125	0.596±0.113	**0.002**
R5 / **Application method**	**Measurement site**	**Measurement time point**		
		Measurement I (before treatment)	**Measurement III (after 6 sessions)**	**P**
Left side (sonophoresis)	Front	0.319 (0.191; 0.807)	0.391 (0.302; 0.717)	0.646
	Cheek	0.320 (0.239; 0,565)	0.371 (0.292; 0.453)	0.575
Right side (mesotherapy)	Front	0.254 (0.202; 0.347)	0.376 (0.322; 0.579)	**0.005**
	Cheek	0.319 (0.227; 0.391)	0.408 (0.364; 0.562)	**0.005**

The patients filled in a questionnaire to assess the changes they observed. An analysis of these questionnaires showed that all the subjects observed an improvement in their overall skin condition after a series of vitamin C and sonophoresis treatments, and 96% of them noticed an improvement following mesotherapy. In addition, a moderate to good reduction in erythema and skin brightening were observed on both sides of the face. As many as 80% of the women reported improved skin turgor, thickness and hydration. In a majority of the participants, the skin was less reactive to factors that caused reddening. The earliest visible effects of the applied treatment were observed after the 2nd session (44% of the participants), and the best results after the 4th session in the case of sonophoresis, whereas after mesotherapy the earliest visible effects were reported after the 1st session (28% of the participants), and the best results after the 4th/5th session (36%). Less than 30% of the participants (sonophoresis) and 72% of the subjects (mesotherapy) noticed that their skin became irritated and reddened after the treatment, and those effects remained for a few hours (sonophoresis) or for one/two days (mesotherapy). An example of treatment effects is shown in Fig.1.

Figure 1. Effects of the treatment.

3. Discussion

Numerous studies have shown that vitamin C can be effectively used in a plethora of whitening and anti-aging treatment procedures due to its properties that inhibit the enzymatic conversion of tyrosine to melanin pigments (melanogenesis) and stimulate collagen synthesis (Caritá et al., 2020; Chen et al., 2016; Farris, 2005). The instability of vitamin C after exposure to air and light and its hydrophilic nature hinder its penetration through the lipid layer of the epidermis; therefore, methods that facilitate the transport of this active ingredient are necessary to increase its effectiveness. Finding an efficient way of transdermal delivery of highly concentrated vitamin C (which can cause cutaneous irritation) poses a challenge (Chen et al., 2016). Microneedle mesotherapy and sonophoresis constitute two techniques that have been successfully used to increase the effectiveness of applied cosmetics, including L-ascorbic acid. Our study showed that the application of a preparation containing 20% vitamin C and ferulic acid with the use of both mesotherapy and sonophoresis as a way of transporting active substances, significantly reduced the signs of erythema. A considerable reduction was observed already after the third session. The female participants also noticed a significant reduction in skin reactivity to factors that have so far exacerbated their erythema symptoms. The obtained results are in agreement with those obtained in the below-mentioned studies showing high efficacy of these two techniques and reduction of erythema after vitamin C application. Markiewicz et al. (2019) confirmed that combination of microneedle mesotherapy with application of preparations rich in vitamin C was associated with better therapeutic effects resulting from improved absorption of the active substance. Topical mixture of silicone gel with vitamin C has been shown to effectively reduce the erythema index and redness of postoperative scars (Yun et al., 2013). Furthermore, our own study indicated a significant alleviation of erythematous changes after application of even less concentrated vitamin C (5%) (Jaros et al., 2019). Moreover, Alster and West (1998) found that application of topical L-ascorbic acid in the aqueous form to post-CO_2 laser resurfacing erythema was associated with a significant reduction in the severity of the disease. In contrast, no such effect was observed when ascorbic acid was applied in a cream form. The authors suggested that the clinical changes noted were related to the anti-inflammatory properties of vitamin C (Alster and West, 1998). Another study also found that topical application of ascorbic acid alleviated skin inflammation caused by reactive oxygen species in

UV-induced erythema (Ames et al., 1993). The anti-inflammatory effect of vitamin C is mediated through inhibition of NK-kB, which reduces activation of some pro-inflammatory cytokines, including TNF-α, IL1, IL6, and IL8; therefore, this compound can be used to treat acne vulgaris and rosacea (Telang, 2013). Aguilera et al. (2012) demonstrated that topical application of a combination of vitamins C and E exerts a photoprotective effect against erythema. Studies have shown that the protective effect of vitamin C against UV radiation and the damage it may cause (erythema, damage to epidermal cells, connective tissue and collagen, etc.) is based on neutralizing reactive oxygen forms (Faris, 2009). Moreover, ascorbic acid, participating in the synthesis of collagen I and III (which is an important supporting substance of blood vessels) at the stage of collagen cross-link formation in the process of proline and lysine hydroxylation, positively supports maintenance of mechanical resistance of capillary walls by sealing their structure (Noszczyk, 2011; Pawlaczyk and Rokowska-Waluch, 2012). Vitamin C has a beneficial effect on blood microcirculation, thus reducing skin erythema. Vitamin C also serves as an anti-pigmentation agent as it inhibits tyrosinase activity by interacting with copper ions at its active sites, thereby reducing the formation of melanin (Al-Niaimi and Chiang, 2017; Ando et al., 2007). Xu et al. (2012) observed that topical application of L-ascorbic acid (23.8%) with iontophoresis increased penetration and improved skin lightness from the second week. However, no effect of vitamin C on skin pigmentation was observed in our study. The lack of effect of the applied treatment on pigmentation may be due to the fact that our patients did not present severe hyperpigmentation problems. In this study we also did not observe any statistically significant differences in skin hydration or transepidermal water loss (TEWL) before the treatment vs. the end of the therapy. Similar results were obtained by Rattanawiwatpong et al. (2020) and Xu et al. (2012), who observed no significant improvement in either skin hydration or TEWL. The authors of the first study suggested that this finding might be associated with the shedding of epidermal cells due to the acidity of ascorbic acid and subsequent loss of skin surface moisture. In contrast, the study based on the application of vitamin C, ascorbic acid (AA) and its derivatives, magnesium ascorbyl phosphate (MAP) and ascorbyl tetra-isopalmitate (ATIP) on forearm skin revealed that all the preparations increased hydration of the stratum corneum after a four-week period of daily application as compared to baseline values, however, only the preparation with ascorbic acid changed the TEWL value (Campos et al., 2008). It seems that the effects of vitamin C may depend on the application sites and the technique used.

The effect of vitamin C on skin elasticity was also analyzed. It was observed that the application of vitamin C using mesotherapy was associated with an improvement in the R1 (the ability of the skin to return to its original state) parameter on the cheeks, as well as the R2 (gross elasticity) and R5 (net elasticity) parameters both on the forehead and cheeks. In contrast, the use of sonophoresis to deliver the test formulation was effective only in terms of improving the overall elasticity on the cheeks and forehead. Based on standardized imaging and dermatologic evaluation, several studies have confirmed that sonophoresis improves the efficacy of vitamin C by increasing its permeability and absorption in the skin (Chen et al., 2016; Lee et al., 2001). Nevertheless, in our study, mesotherapy appears to be more effective. The improvement of elasticity following the application of transdermal emulgel preparations of 5% sodium ascorbyl phosphate and/or ascorbic acid were also found in a double-blind, placebo-controlled study (Mohammadi et al., 2021). Crisan et al. (2015) showed that vitamin C complex not only significantly improved skin texture but also restored interstitial collagen loss. The involvement of vitamin C in the synthesis, remodeling, and maintenance of the skin's extracellular matrix makes it a valuable compound acting against signs of aging (Crisan et al., 2015; Sauermann et al., 2004). Topical application of this vitamin contributes to maintaining the normal amount and density of collagen at the dermal level, strengthening collagen fibers, and promoting neosynthesis (Boyera et al., 1998; Humbert et al., 2003; Pinell et al., 2001). Considering the aforementioned facts, it is not surprising that the preparation containing vitamin C improved skin elasticity in our study. The results of the Cutometer measurements are confirmed by subjective assessment of the participants. Improvements in the overall skin condition after the series of treatments with the vitamin C product were observed by 100% of the women on the left side of the face (sonophoresis) and 96% on the right side (mesotherapy). In addition, a moderate to considerable reduction in erythema was observed.

According to most of the women, their skin seemed more elastic, thicker, and better moisturized. Some of the subjects experienced mild skin discomfort (slight burning, skin tightness, stinging, itching), however, those effects were short-term.

4. Conclusions

This study presents evidence that application of 20% vitamin C (pH 3.0) with ferulic acid via mesotherapy and sonophoresis is effective in reducing signs of erythema. Such a therapy also produces favorable effects in terms of improved skin elasticity. Mesotherapy appears to be a slightly more effective method for delivering active substances as compared to sonophoresis since more pronounced changes were observed when using this specific technique. The side effects caused by both techniques are not highly troublesome, they disappear after a short time and we are convinced that the advantages they offer certainly outweigh their drawbacks.

References

Al-Niaimi F., Chiang N.Y.Z. 2017. Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *Journal of Clinical Aesthetic Dermatology* 10(7), pp. 14–17.

Aguilera J., de Gálvez M.V., Sánchez C., Herrera-Ceballos E. 2012. Changes in photoinduced cutaneous erythhema with topical application of a combination of vitamins C and E before and after UV exposure. *Journal of Dermatological Science* 66(3), pp. 216–220. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2012.03.010.

Ando H., Kondoh H., Ichihashi M., Hearing V.J. 2007. Approaches to identify inhibitors of melanin biosynthesis via the quality control of tyrosinase. *Journal of Investigative Dermatology* 127(4), pp. 751–761. DOI: 10.1038/sj.jid.5700683.

Alster T.S., West T.B. 1998. Effect of topical vitamin C on postoperative carbon dioxide laser resurfacing erythema. *Dermatologic Surgery* 24(3), pp. 331–334. DOI: 10.1111/j.1524-4725.1998.tb04163.x.

Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(17), pp. 7915–7922. DOI: 10.1073/pnas.90.17.7915.

Brandi C., Cuomo R., Nisi G., Grimaldi L., D'Aniello C. 2018. Face Rejuvenation: a new combinated protocol for biorevitalization. *Acta Biomedica Atenei Parmensis* 89(3), pp. 400–405. DOI: 10.23750/abm.v89i3.6162.

Burke K.E. 2007. Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals. *Dermatologic Therapy* 20(5), pp. 314–321. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2007.00145.x.

Boyera N., Galey I., Bernard B.A. 1998. Effect of vitamin C and its derivatives on collagen synthesis and cross-linking by normal human fibroblasts. *International Journal of Cosmetic Science* 20(3), pp. 151–158. DOI: 10.1046/j.1467-2494.1998.171747.x.

Caritá A.C., Fonseca-Santos B., Shultz J.D., Michniak-Kohn B., Chorilli M., Leonardi G.R. 2020. Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 24(2), article number 102117. DOI: 10.1016/j.nano.2019.102117.

Choi S., Han J., Kim J.H., Kim A.R., Kim S.H., Lee W., Yoon M.Y., Kim G., Kim Y.S. 2020. Advances in dermatology using DNA aptamer "Aptamin C" innovation: Oxidative stress prevention and effect maximization of vitamin C through antioxidation. *Journal of Cosmetic Dermatology* 19(4), pp. 970–976. DOI: 10.1111/jocd.13081.

Chen Y.T., Chang C.C., Hsu C.R., Shen J.H., Shih C.J., Lin B.S. 2016. Combined vitamin C sonophoresis and neodymium-doped yttrium aluminum garnet (NdYAG) laser for facial hyperpigmentation: An outcome observation study in Asian patients. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* 82(5), pp. 587. DOI: 10.4103/0378-6323.182806.

Crisan D., Roman I., Crisan M., Scharffetter-Kochanek K., Badea R. 2015. The role of vitamin C in pushing back the boundaries of skin aging: an ultrasonographic approach. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 8(3), pp. 463–470. DOI: 10.2147/ccid.S84903.

Campos P.M., Gonçalves G.M., Gaspar L.R. 2008. In vitro antioxidant activity and in vivo efficacy of topical formulations containing vitamin C and its derivatives studied by non-invasive methods. *Skin Research & Technology* 14(3), pp. 376–380. DOI: 10.1111/j.1600-0846.2008.00288.x.

Farris P., Draelos Z.D., Dover J.S., Alam M. 2009. *Cosmeceuticals. Procedures in Cosmetic Dermatology* 2. Saunders Elsevier, New York, pp. 51–56.

Gęgotek A., Jarocka-Karpowicz I., Skrzydlewska E. 2020. Cytoprotective Effect of Ascorbic Acid and Rutin against Oxidative Changes in the Proteome of Skin Fibroblasts Cultured in a Three-Dimensional System. *Nutrients* 12(4). DOI: 10.3390/nu12041074.

Humbert P.G., Haftek M., Creidi P., Lapière C., Nusgens B., Richard A., Schmitt D., Rougier A., Zahouani H. 2003. Topical ascorbic acid on photoaged skin, Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: double-blind study vs. placebo. *Experimental Dermatology* 12(3), pp. 237–244. DOI: 10.1034/j.1600-0625.2003.00008.x.

Jaros A., Zasada M., Budzisz E., Dębowska R., Gębczyńska-Rzepka M., Rotsztejn H. 2019. Evaluation of selected skin parameters following the application of 5% vitamin C concentrate. *Journal of Cosmetic Dermatology* 18(1), pp. 236–241. DOI: 10.1111/jocd.12562.

Lacarrubba F., Tedeschi A., Nardone B., Micali G. 2008. Mesotherapy for skin rejuvenation: assessment of the subepidermal low-echogenic band by ultrasound evaluation with cross-sectional B-mode scanning. *Dermatologic Therapy* 21(3), pp. 1–5. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2008.00234.x.

Lin F.H., Lin J.Y., Gupta R.D., Tournas J.A., Burch J.A., Selim M.A., Monteiro-Riviere N.A., Grichnik J.M., Zielinski J., Pinnell S.R. 2005. Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E and doubles its photoprotection of skin. *Journal of Investigative Dermatology* 125(4), pp. 826–832. DOI: 10.1111/j.0022-202X.2005.23768.x.

Lin J.Y., Selim M.A., Shea C.R., Grichnik J.M., Omar M.M., Monteiro-Riviere N.A., Pinnell S.R. 2003. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *Journal of the American Academy of Dermatology* 48(6), pp. 866–874. DOI: 10.1067/mjd.2003.425.

Lee S.H.W., C.M., Chung C.J., Hong H.S. 2001. Sonophoresis with 20% L-Ascorbic Acid and 2% Kojic Acid Gel for the Melasma Patients. *Dermatologica Sinica*, 19, pp. 275–281. DOI: 10.29784/DS.

Mohammadi S., Shokri J., Ranjkesh M., Akbari Hamed S., Monajjemzadeh F. 2021. Comparative physicochemical stability and clinical anti-wrinkle efficacy of transdermal emulsgel preparations of 5% sodium ascorbyl phosphate and or ascorbic acid on human volunteers. *Journal of Cosmetic Dermatology* 20(1), pp. 174–180. DOI: 10.1111/jocd.13471.

Markiewicz A., Zasada M., Erkiert-Polguj A., Wieckowska-Szakiel M., Budzisz E. 2019. An evaluation of the antiaging properties of strawberry hydrolysate treatment enriched with L-ascorbic acid applied with microneedle mesotherapy. *Journal of Cosmetic Dermatology* 18(1), pp. 129–135. DOI: 10.1111/jocd.12545.

Noszczyk M. 2011. Applied cosmetology-daily skin care. *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa. pp. 150-152.

Pawlaczyk M.K., Rokowska-Waluch A. 2012. Witamina C i skóra. *Farmacja Współczesna* 5. Wydawnictowo Akademia Medycyny, Warszawa, pp. 174–178.

Pinnell S.R., Yang H., Omar M., Monteiro-Riviere N., DeBuys H.V., Walker L.C., Wang Y., Levine M. 2001. Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies *Dermatologic Surgery* 27(2), pp. 137–142. DOI: 10.1046/j.1524-4725.2001.00264.x.

Rattanawiwatpong P., Wanitphakdeedecha R., Bumrungpert A., Maiprasert M. 2020. Anti-aging and brightening effects of a topical treatment containing vitamin C, vitamin E, and raspberry leaf cell culture extract: A split-face, randomized controlled trial. *Journal of Cosmetic Dermatology* 19(3), pp. 671–676. DOI: 10.1111/jocd.13305.

Sauermann K., Jaspers S., Koop U., Wenck H. 2004. Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin. *BMC Dermatology* 4(1), pp. 13. DOI: 10.1186/1471-5945-4-13.

Telang P.S. 2013. Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatology Online Journal* 4(2), pp. 143–146. DOI: 10.4103/2229-5178.110593.

Ueda H., Mutoh M., Seki T., Kobayashi D., Morimoto Y. 2009. Acoustic cavitation as an enhancing mechanism of low-frequency sonophoresis for transdermal drug delivery. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 32(5), pp. 916–920. DOI: 10.1248/bpb.32.916.

Xu T.H., Chen J.Z., Li Y.H., Wu Y., Luo Y.J., Gao X.H., Chen H.D. 2012. Split-face study of topical 23.8% L-ascorbic acid serum in treating photo-aged skin. *Journal of Drugs in Dermatology* 11(1), pp. 51–56.

Yun I.S., Yoo H.-S., Kim Y.O., Rah D.K. 2013. Improved Scar Appearance With Combined Use of Silicone Gel and Vitamin C for Asian Patients: A Comparative Case Series. *Aesthetic Plastic Surgery* 37(6), pp. 1176–1181. DOI: 10.1007/s00266-013-0210-5.

Zasada M., Markiewicz A., Drozd Z., Mosińska P., Erkiert-Polguj A., Budzisz E. 2019. Preliminary randomized controlled trial of antiaging effects of l-ascorbic acid applied in combination with no-needle and microneedle mesotherapy. *Journal of Cosmetic Dermatology* 18(3), pp. 843–849. DOI: 10.1111/jocd.12727.

Załącznik 7. *Bibliometria*

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

Łódź, 16-06-2023

JM01.545.193.2023

Spis publikacji – mgr Anna Jaros

Punktacja została wykonana na podstawie spisu publikacji przedstawionego przez osobę zainteresowaną, przy użyciu list Impact Factor i MEiN za rok publikacji artykułu.

Łącznie **14** cytowań (**14** bez autocytowań), indeks Hirscha wynosi **1** (Źródło: **ISI Web of Science Core Collection**).
Łącznie **16** cytowań (**16** bez autocytowań), indeks Hirscha wynosi **1** (Źródło: **Scopus**).

Prace	Oznaczenie autorstwa	IF z roku publ	MEiN z roku publ	Typ publ
Anna Jaros, Elżbieta Budzisz, Anna Erkiert-Polguj, Evaluation of the effectiveness of ascorbic acid preparations in the treatment of erythema by microneedle mesotherapy and sonophoresis, str. 66-79 W:Problemy współczesnej medycyny. Część II, red. Monika Łukomska-Szymańska, Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Łódź 2021	**pierwszy**		**20**	**rozdział**
A. Jaros, M. Zasada, E. Budzisz, R. Debowska, M. Gebczynska-Rzepka, H. Rotsztejn „Evaluation of elected skin parameters after application of 5% Vitamin C concentrate" Journal of Cosmetic Dermatology 2019 Feb;18(1):236-241	**pierwszy**	**1,621**	**70**	**oryginal**
SUMA		**1,621**	**90**	

mgr Aleksandra Andrzejewska
Oddział Bibliografii i Bibliometrii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
punktacja@umed.lodz.pl

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI
Centrum Informacyjno-Biblioteczne
Oddział Bibliografii i Bibliometrii
90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 2
tel. 42 272-54-21, 272-54-22
e-mail: punktacja@umed.lodz.pl

1 z 1