

Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Wydział Farmaceutyczny  
Katedra Kosmetologii  
Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych

**Agata Markiewicz-Tomczyk**

**Zastosowanie pojedynczych i łączonych metod aplikacji peelingów  
chemicznych w zabiegach przeciwstarzeniowych**

The use of single and combined methods of applying chemical peels in  
anti-aging treatments

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

Rozprawa doktorska w oparciu o cykl publikacji naukowych

**Promotor**

**Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz**

**Promotor pomocniczy**

**Dr n. med. Anna Erkiert-Polguj**

**ŁÓDŹ 2023**

# SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW .....	3
I. WSTĘP .....	7
II. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA.....	9
2.1 Chronologiczne starzenie się skóry.....	9
2.2 Fotostarzenie się skóry .....	11
2.3 Rola kwasu azelainowego w zabiegach kosmetycznych.....	15
2.4 Rola kwasu fitowego w zabiegach kosmetycznych .....	17
2.5 Rola kwasu L-askorbinowy w zabiegach kosmetycznych.....	18
2.6 Zastosowanie mezoterapii mikroigłowej w zabiegach kosmetycznych.....	21
III. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY.....	23
IV. CZĘŚĆ BADAWCZA .....	24
4.1. Materiały i metodyka .....	24
4.1.1 Charakterystyka grup badanych .....	24
4.1.2 Stosowane metody zabiegowe.....	26
4.1.3 Ocena aparaturowa .....	29
4.1.4 Ankieta satysfakcji uczestniczek z efektów zabiegów .....	33
V. WYNIKI .....	34
VI. DYSKUSJA .....	74
VII. WNIOSKI.....	81
VIII. STRESZCZENIE.....	82
IX. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM .....	85
X. SPIS TABEL I RYCIN .....	88
XI. PIŚMIENNICTWO .....	89
XII. ZAŁĄCZNIKI .....	97

## WYKAZ SKRÓTÓW

AA	Kwas azelainowy ( <i>ang. azelaic acid</i> )
AP-1	Czynnik transkrypcyjny ( <i>ang. activator protein 1</i> )
CCL2,	Chemokina MCP-1, białkowy chemoatraktant monocytów ( <i>ang. Chemokine MCP-1, a protein monocyte chemoattractant</i> )
CCL3	Chemokina, białko zapalne makrofagów 1 alfa ( <i>ang. Chemokine, an inflammatory protein of 1 alpha macrophages</i> )
CXCL1	Chemokina GRO alfa ( <i>ang. Chemokine GRO alfa</i> )
CXCL8	Chemokina IL-8 ( <i>ang. chemokine IL-8</i> )
COX-2	Cyklooksigenaza-2 ( <i>ang. cyclooxygenase-2</i> )
DAMP	Wzorce molekularne związane z uszkodzeniem ( <i>ang. Danger/Damage Associated Molecular Patterns</i> )
ECM	Macierz pozakomórkowa ( <i>ang. extracellular matrix</i> )
EGF	Naskórkowy czynnik wzrostu ( <i>ang. epidermal growth factor</i> )
FGF	Czynnik wzrostu fibroblastów ( <i>ang. fibroblasts growth factor</i> )
GM-CSF	Czynniki stymulujące tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów ( <i>ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> )
HIF-1	Czynnik indukowany hipoksją 1 ( <i>ang. hypoxia-inducible factor 1</i> )
IL-1 $\beta$ , IL6	Interleukiny -1 $\beta$ oraz -6 ( <i>ang. Interleukin -1<math>\beta</math> and -6</i> )
IR	Promieniowanie podczerwone ( <i>ang. infrared radiation</i> )
MMP	Metaloproteinaz macierzy ( <i>ang. matrix metalloproteinase</i> )
NADPH	Fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego ( <i>ang. reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> )
NF- $\kappa$ B	Jądrowy czynnik transkrypcyjny ( <i>ang. nuclear factor <math>\kappa</math>B</i> )
PPAR- $\gamma$	Receptor gamma aktywowany przez proliferatory peroksisomów ( <i>ang. peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i> )

PDGF	Płytkopochodny czynnik wzrostu ( <i>ang. platelet-derived growth factor</i> )
RFT	Reaktywne formy tlenu
SASP	Fenotyp wydzielniczy związany ze starzeniem ( <i>ang. Senescence Associated Secretory Phenotype</i> ).
SDF-1	Czynnik pochodzenia stromalnego-1 ( <i>ang. stromal cell-derived factor 1</i> )
sWAT	Podskórna biała tkanka tłuszczowa ( <i>ang. subcutaneous white adipose tissue</i> ),
TGF- $\beta$	Transformujący czynnik wzrostu beta ( <i>ang. transforming growth factor <math>\beta</math></i> )
TNF- $\alpha$	Czynnik martwicy nowotworów ( <i>ang. tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> )
UV	Promieniowanie ultrafioletowe ( <i>ang. ultraviolet radiation</i> )

*„Wszystko, czego się dotąd nauczyłeś, ztraci sens, jeśli nie potrafisz znaleźć zastosowania dla tej wiedzy.”*

*Paulo Coelho*

*Serdecznie dziękuję*

*Pani prof. dr hab. n. farm. Elżbiecie Budzisz  
za opiekę naukową, serdeczne wsparcie,  
okazaną życzliwość oraz za poświęcony czas  
w trakcie realizacji badań i redagowaniu pracy.*

*Serdecznie dziękuję*

*Pani dr n. med. Annie Erkiert-Polguj  
za opiekę naukową, okazaną serdeczność  
cenne uwagi oraz wszelką pomoc i poświęcony czas  
w trakcie realizacji badań i redagowaniu pracy.*

*Dziękuję mężowi Mateuszowi za cierpliwość, wyrozumiałość,  
miłość oraz niegasnącą wiarę we mnie.*

*Chciałabym również podziękować najbliższej Rodzinie  
oraz Przyjaciółom za nieustanne wsparcie i motywację.*

*W szczególności dziękuję moim Rodzicom  
za pomoc w wyborze drogi zawodowej,  
nieustającą wiarę we mnie, miłość, motywację,  
wsparcie oraz szczerą modlitwę.*

*Tę pracę dedykuje moim dwóm wspaniałym synom  
Julianowi i Franciszkowi,  
nauczyli mnie cierpliwości i pokory,  
spełnili moje największe marzenie w życiu.*

## I. WSTĘP

Starzenie definiuje się jako postępujące funkcjonalne pogarszanie się funkcjonowanie tkanek prowadzące ostatecznie do ich śmierci. Obniżenie funkcjonowania może wynikać z utraty lub zmniejszonej aktywności komórek post-mitotycznych lub z brakiem możliwości zastąpienia takich komórek ze względu na zmniejszenie zdolności komórek (macierzystych) do podtrzymywania replikacji i podziałów komórkowych. Starzenie się skóry jest złożonym procesem biologicznym związanym z wpływem czynników wewnętrznych, m.in. genetycznych, hormonalnych, biochemicznych, metabolizmu komórkowego i funkcjonowania układu immunologicznego oraz czynników zewnętrznych, w tym promieniowania ultrafioletowego (UV), zanieczyszczenia środowiska, działania różnych rozpuszczalników organicznych, metali ciężkich lub przejściowych (takie jak ołów, kadm, rtęć i żelazo), a także niewłaściwego stylu życia, np. palenia tytoniu, czy nieprawidłowej diety [1]. Wspomniane czynniki wewnętrzne powodują nieodwracalną degenerację skóry, w tym spłaszczenie warstwy podstawnej oddzielającej naskórek od skóry właściwej, utratę grubości skóry, zmniejszenie liczby fibroblastów, ponadto włókna kolagenu i elastyny ulegają osłabieniu oraz małej ich gęstość ułożenia w skórze [2, 3]. Również prawidłowy metabolizm oksydacyjny komórki może być źródłem produktów ubocznych odpowiedzialnych za uszkodzenia molekularne, przyczyniając się w ten sposób do starzenia się skóry (starzenie wewnętrzne) [4]. Natomiast uważa się, że czynniki środowiskowe i ksenobiotyki są odpowiedzialne w 80–90% za proces starzenia się skóry [5, 6]. Nagromadzenie szkodliwych czynników wywołuje stres oksydacyjny, prowadzi do uszkodzeń komórek, zmian strukturalnych, a w efekcie do starzenia się organizmu. Zarówno zaburzenia produkcji kolagenu i jego nasiloną degradacja prowadzą do stopniowej utraty przez skórę elastyczności, staje się ona wiotka, przesuszona i zaczynają pojawiać się zmarszczki. Z kolei zaburzenia produkcji melaniny prowadzą do powstawania przebarwień. Powstawanie zmarszczek i zaburzeń barwnikowych może znacząco wpływać na jakość życia i samopoczucie pacjentów, gdyż skóra twarzy stanowi najbardziej wyeksponowany element ludzkiego ciała [7]. Obserwowane w społeczeństwach zachodnich wydłużenie średniej długości życia oraz gloryfikowanie młodości i fizycznego piękna powoduje, że coraz więcej osób zgłasza się do gabinetów dermatologicznych i kosmetycznych, aby opóźnić procesy starzenia się skóry [8]. Estetyka wyglądu jest niezwykle ważna szczególnie dla kobiet [9]. Z badań Casha wynika, że tylko 7% kobiet nie zwraca uwagi na swój wygląd fizyczny [10]. Z kolei, Veale i wsp. [11] zaobserwowali, że kobiety uważają twarz za najważniejszy element warunkujący ich atrakcyjność.

Współczesna kosmetologia intensywnie rozwija się w kierunku stosowania terapii łączonych, jednocześnie zachowując jak najwyższe bezpieczeństwo zabiegowe, ograniczając ryzyko niepożądanych reakcji ze strony organizmu. Klienci, coraz chętniej korzystają z zabiegów złożonych, jednak zwracają dużą uwagę na krótki czas rekonwalescencji po zabiegu, nie wyłączając ich z codziennych aktywności. Niewątpliwie potrzeba zachowania młodego wyglądu przyspieszyła rozwój przemysłu kosmetycznego. Według oszacowań, do 2030 roku globalny rynek produktów przeciwstarzeniowych osiągnie wartość 60 miliardów dolarów [12].



## II. PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

### 2.1 Chronologiczne starzenie się skóry

Proces starzenia się organizmu jest związany ze skracaniem się telomerów podczas kolejnych podziałów komórek i niestabilnością genomową [13]. U większości osób można zaobserwować nakładanie się cech starzenia chronologicznego związanego z działaniem czynników pochodzenia wewnętrznego w połączeniu ze starzeniem zewnątrzpochodnym. Reaktywne formy tlenu mogą przyczyniać się do powstawania dimerów pirymidynowych w DNA, które w konsekwencji uszkadzają nukleotyd guaninowy [14], co prowadzi do skrócenia telomerów i potwierdza pogląd, że starzenie chronologiczne nakłada się na fotostarzenie [15]. Jednakże, kluczowe cechy histologiczne i kliniczne obserwowane w starzeniu chronologicznym i fotostarzeniu są odmienne. Wyraźne zmiany histologiczne związane ze starzeniem chronologicznym obejmują ścieńczenie skóry, które jest spowodowane zanikiem warstw komórek naskórka oraz redukcją fibroblastów i składników macierzy pozakomórkowej (ECM *ang. extracellular matrix*) w warstwach skóry właściwej [16]. Z wiekiem, zmniejsza się ilość kolagenu i ulega on fragmentacji, co wynika z nasilonej sekrecji metaloproteinaz degradujących macierz przez fibroblasty [17]. Ponadto obserwuje się spadek liczby włókien elastycznych oraz zmiany poziomu glikozaminoglikanów i proteoglikanów w skórze właściwej [18]. Wraz z wiekiem włókna elastyny ulegają coraz szybszej degradacji [19]. Zmiany w ilości składników ECM skutkują wieloma cechami klinicznymi występującymi w starzejącej się skórze, takimi jak zmarszczki i utrata elastyczności skóry. Powstawanie zmarszczek jest także związane ze zmianami w podskórnej białej tkance tłuszczowej (sWAT – *ang. subcutaneous white adipose tissue*), znajdującej się pod warstwami skóry właściwej [20]. Ponadto proces starzenia może być indukowany przez stres oraz aktywację onkogenów [21]. Ze względu na fakt, iż skóra jest stale narażona na zewnętrzne czynniki stresogenne, takie jak promieniowanie UV i zanieczyszczenia, prawdopodobne wydaje się, że wpływ czynników środowiskowych może sprzyjać starzeniu się chronologicznemu i występowaniu procesu zapalnego. Reaktywne formy tlenu (RFT), uszkodzone DNA oraz zaburzona homeostaza komórkowa są aktywatorami wewnątrzkomórkowych białkowych kompleksów prozapalnych znanych jako inflamasomy [22]. Wzrost sygnalizacji przeciwzapalnej transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- $\beta$  -*ang. transforming growth factor  $\beta$* ) może być związany z gromadzeniem się komórek immunosupresyjnych w starzejącej się skórze właściwej [23]. Gromadzenie się starzejących się komórek prowadzi do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego i dysfunkcji metabolicznej,

co nasila proces starzenia. Zjawisko akumulacji starzejących się komórek odnotowywane jest również w skórze. [24]. Komórki te nie mogą się dzielić, jednakże pozostają one metabolicznie aktywne i charakteryzują się fenotypem wydzielniczym związany ze starzeniem się (SASP ang. *Senescence Associated Secretory Phenotype*). Wydzielane przez nie cytokiny prozapalne istotnie zmieniają mikrośrodowisko skóry [25]. W ludzkiej skórze obecność starzejących się komórek, w tym fibroblastów, wiąże się ze zmianami morfologii włókien elastycznych oraz pojawianiem się zmarszczek [24]. Fibroblasty są odpowiedzialne za prawidłowe funkcjonowanie skóry i procesy gojenia się ran poprzez wydzielanie związków aktywnych i przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej. Fibroblasty obecne w starzejącej się skórze wykazują zmieniony fenotyp wydzielniczy bogaty w cytokiny prozapalne, chemokiny i proteazy, które to czynniki mogą wywierać szkodliwy wpływ na pobliskie komórki i lokalne środowisko tkankowe [26]. Wydzielane przez nie interleukiny (IL-1 $\beta$  i IL-6 ang. *Interleukin -1 $\beta$  and -6*) przyczyniają się do zakłócenia homeostazy kolagenu [27], a zachowanie ekspresji czynnika pochodzenia stromalnego-1 (SDF-1 ang. *stromal cell-derived factor 1*) stymuluje pojawienie się związanych ze starzeniem zaburzeń pigmentacji [28]. Z wiekiem, wzrasta również nagromadzenie się starzejących keratynocytów o zmienionym profilu wydzielniczym. W skórze występują różne komórki odpornościowe, które stanowią integralny element funkcjonalny zdrowej tkanki, jednakże ich obecność w starzejącej się skórze może przyczyniać się do wystąpienia w niej stanu zapalnego. Wydaje się, że zmniejszona liczba komórek Langerhansa w starzejącym się naskórku nie tylko upośledza zdolność skóry do regulowania odpowiedzi immunologicznej, ale także przyczynia się do zmniejszonej integralności bariery starzejącej się skóry. Również nagromadzenie starzejących się komórek odpornościowych w starzejącej się skórze może przyczynić się do rozwoju stanu zapalnego i skutecznie osłabić mechanizmy nadzoru immunologicznego [29]. Akumulacja wspomnianych komórek w skórze osób w podeszłym wieku może wynikać z długotrwałego narażenia jej na działanie na różnych stresorów środowiskowych [30]. U osób starszych rozpad i reorganizacja macierzy zewnątrzkomórkowej zachodzi nie tylko w przestrzeni pozakomórkowej, ale procesy te wpływają również na mikrounacznienie skóry i układ limfatyczny [31]. Nagromadzenie komórek cytotoksycznych może skutkować zwiększoną ekspozycją macierzy pozakomórkowej skóry na działanie enzymów metaloproteinaz macierzy (MMP, ang. *matrix metalloproteinase*), proteaz serynowe, które mogą utrwalac degradację włókien sprężystych, a w konsekwencji osłabiać wytrzymałość i elastyczność skóry. Poza wspomnianymi czynnikami, istotną rolę w podtrzymywaniu stanu zapalnego w starzejącym się organizmie odgrywać mogą także

mitochondrialne wzorce molekularne związane z uszkodzeniem (DAMP *ang. Danger/Damage Associated Molecular Patterns*), zmiany mikroflory jelitowej, zwiększona aktywność układu krzepnięcia i fibrynolizy oraz zaburzenia regulacji szlaku dopełniacza, a także nagromadzenie mutacji w mitochondrialnym DNA (mtDNA) [32, 33]. Bardzo istotną rolę odgrywają także czynniki środowiskowe, m.in. promieniowanie UV, zanieczyszczenie, palenie papierosów, dieta, itp. [34]. W skórze przewlekle narażonej na promieniowanie UV wzrasta liczba komórek odpornościowych [35], nasilają się procesy starzenia fibroblastów, co może przekładać się na obserwowane rozległe uszkodzenia macierzy zewnątrzkomórkowej [36]. Podsumowując, nagromadzenie starzejących się komórek w skórze zmniejsza jej zdolność do zniwelowania stanu zapalnego i naprawy uszkodzeń strukturalnych. Natomiast powstające prozapalne środowisko ułatwia powstawanie uszkodzeń i przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej skóry. Procesy te prowadzą nie tylko do zmian w architekturze skóry i wyglądzie klinicznym, ale mogą również mieć one bezpośredni wpływ na rezydujące i naciekające skórę komórki odpornościowe oraz immunokompetencję komórek u osób starszych.

## **2.2 Fotostarzenie się skóry**

Skóra pełni funkcję bariery ochronnej przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi, takimi jak promieniowanie UV, zanieczyszczenie środowiska, promieniowanie jonizujące, itp., przed czynnikami mechanicznymi oraz inwazją patogenów [4, 22]. Powtarzająca się nadmierna ekspozycja na światło słoneczne lub światło lamp UV wywołuje zmiany w skórze, które przypominają, ale nie są identyczne, jak te obserwowane podczas normalnego procesu starzenia [16]. Promieniowanie UV bezpośrednio i pośrednio zaburza homeostazę skóry, indukując stres komórkowy, m.in. stres oksydacyjny, retikulum endoplazmatycznego i mitochondrialny [37-39]. Starzenie się komórek zatrzymuje ich proliferację i stymuluje ekspresję dużej liczby mediatorów pro- i przeciwzapalnych [40]. Interleukiny, chemokiny (np. CCL2 *ang. Chemokine MCP-1 a protein monocyte chemoattractant*, CCL3 *ang. Chemokine, an inflammatory protein of 1 alpha macrophages*, CXCL1 *ang. Chemokine GRO alfa*, CXCL8 *ang. chemokine IL-8*) i czynniki stymulujące tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF *ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) są głównymi wydzielanymi czynnikami prozapalnymi wykrywanymi w wielu modelach eksperymentalnych. Silny wzrost ekspresji cyklooksygenazy-2 (COX-2 *ang. cyclooxygenase-2*) wskazuje, że prostanoidy odgrywają rolę w procesie fotostarzenia. Skóra narażona na nadmierną, regularną ekspozycję na promieniowanie słoneczne ulega procesowi

fotostarzenia. W obrazie klinicznym skóry zmienionej w procesie fotostarzenia obserwujemy głębokie zmarszczki, widoczne są nadmiernie rozszerzone naczynia na twarzy tzw. teleangiektazje, zmiany pigmentacyjne oraz atrofia naskórka [8]. Większa widoczność zmarszczek i atrofia naskórka, wzmożona melanogeneza i nieregularna pigmentacja, a nawet oparzenia słoneczne stanowią powszechne kliniczne fenotypy fotostarzenia [41]. W przeciwieństwie do starzenia chronologicznego, które jest determinowane przez predyspozycje fizjologiczne jednostki, fotostarzenie zależy przede wszystkim od stopnia ekspozycji na promieniowanie UV i ilości melaniny w skórze [42]. Szczególnie narażone są obszary skóry ekspozowane na słońce, takie jak twarz, szyja, górna część klatki piersiowej, dłonie i przedramiona [43]. Fotostarzenie jest procesem kumulatywnym, ponieważ przyczynia się do niego wiele czynników. Wykazano, że osoby o jaśniejszym kolorze skóry, mieszkające w krajach nasłonecznionych, łatwiej zapadają na nowotwory skóry, takie jak rak podstawnokomórkowy, rak płaskonabłonkowy i czerniak [17]. Promieniowanie UVC (o długości fali  $\lambda$  od 100 do 290 nm) jest prawie całkowicie pochłaniane przez warstwę ozonową i nie ma wpływu na skórę. Natomiast promieniowanie UVB ( $\lambda$  290 - 320 nm) oddziałuje na powierzchniową warstwę skóry (naskórek) i powoduje oparzenia słoneczne. W przeszłości uważano, iż promieniowanie UVA ( $\lambda$  320 - 400 nm) ma niewielki wpływ na skórę, jednakże późniejsze badania wykazały, że wnika ono głębiej w skórę w porównaniu z UVB powodując poważniejsze uszkodzenia [44]. Promieniowanie UVB indukuje uwalnianie przez keratynocyty rozpuszczalne mediatory, m.in. cytokiny zapalne, ale także metaloproteinazy macierzy, które dyfundują w głąb skóry właściwej modulując tam macierz pozakomórkową [45]. Natomiast, długotrwałe promieniowanie UVA może bezpośrednio powodować uszkodzenia makrocząsteczkowe w fibroblastach skóry i generować na przykład delecje w obrębie mitochondrialnego DNA [46]. Wykazano również, że promieniowanie podczerwone (IR *ang. infrared radiation*) może powodować uszkodzenia skóry i przyczyniać się do jej fotostarzenia.

Ekspozycja na promieniowanie UV indukuje wytwarzanie RFT, które aktywują powierzchniowe czynniki wzrostu komórek, receptory cytokin i oksydazę fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH *ang. reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) [47]. RFT aktywują cytoplazmatyczne szlaki transdukcji sygnału w fibroblastach, które są związane z różnicowaniem, wzrostem, starzeniem się komórek i degradacją tkanek, a także powodują trwałe zmiany genetyczne w protoonkogenach i genach supresorowych nowotworów [48]. RFT aktywują czynnik jądrowy kappa-B (NF- $\kappa$ B *ang.*

*nuclear factor κB*), który indukuje ekspresję cytokin na powierzchni komórki, które sprzyjają fotostarzeniu, takich jak interleukina 1 (IL1), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF *ang. epidermal growth factor*) i czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF-α *ang. tumor necrosis factor α*) w keratynocytach i komórkach skóry [49]. Nasiloną ekspresją metaloproteinaz prowadzi do degradacji macierzy pozakomórkowej skóry właściwej, w szczególności prokolagenów I i III [17]. Jednocześnie zmniejsza się również synteza kolagenu, co wyjaśnia hamowanie receptora TGF-β typu II w fotostarzejącej się skórze po ekspozycji na promieniowanie UV [45]. Powoduje to naruszenie integralności skóry właściwej i uszkodzenie reakcji naprawczej. Chociaż pewna ilość świeżego kolagenu kompensacyjnego jest wytwarzana w odpowiedzi na uszkodzenie wywołane UV, przy ciągłej ekspozycji na promieniowanie UV powstają uszkodzenia struktury skóry, a z czasem widoczne są głębokie zmarszczki [50]. Zaawansowany wiek powoduje akumulację uszkodzeń oksydacyjnych skóry w wyniku nadmiaru RFT. Potwierdzają to badania nad odpowiednimi regulatorami produkcji i degradacji kolagenu, w których stwierdzono podwyższony poziom czynnika transkrypcyjnego (AP-1 *ang. activator protein 1*) i aktywność metaloproteinazy macierzy w starzejącej się skórze w porównaniu z młodą skórą [17, 51]. Promieniowanie UV stymuluje również degradację składników ECM skóry, np. kolagenu, elastyny i glikoprotein, czyli zmiany podobne do zachodzących w procesie wewnętrznego starzenia, jednakże zachodzące znacznie szybciej niż w chronologicznym starzeniu [52, 53]. Ekspozycja na promieniowanie zwiększa ekspresję elastyny co nasila skórną akumulację elastyny i jej fragmentów (elastoza słoneczna) [54]. Patologiczne zmiany składników ECM sprzyjają zwłóknieniu tkanek i starzeniu się komórek [54]. Promieniowanie UV i fotostarzenie wywołują nadmierną aktywność proteolityczną, która zaburza trójwymiarową integralność skóry [55]. Zarówno UVA lub UVB aktywują szeroki zakres czynników transkrypcyjnych w komórkach skóry, w tym czynnika AP-1 i jądrowego czynnika κB (NF-κB), zaangażowanych w transkrypcję genów odpowiednio dla enzymów degradujących macierz i cytokin prozapalnych [17], co nasila produkcję metaloproteinaz macierzy (szczególnie kolagenazy-1 (MMP-1), stromelizyny-1 (MMP-3) i żelatynazy A (MMP-2), a w konsekwencji degradację kolagenu, elastyny i innych składników tkanki łącznej [56]. Enzymy te również pośrednio hamują syntezę kolagenu w skórze [56]. Aktywacja wspomnianych czynników transkrypcyjnych ostatecznie prowadzi do zwiększenia suchości skóry, pigmentacji, wiotkości, powstawania głębokich zmarszczek i aktywacji apoptozy [57, 58]. Synteza kolagenu jest procesem, na który wpływ mają czynniki wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe. Jednym z czynników regulatorowych jest transformujący czynnik wzrostu beta (TGF-β),

który stymuluje produkcję kolagenu [59]. Drugim ważnym regulatorem jest czynnik transkrypcyjny AP-1, który hamuje syntezę kolagenu i sprzyja jego rozpadowi [50]. Ekspozycja na promieniowanie UV przyczynia się do wytwarzania reaktywnych form tlenu, które z kolei mogą powodować uszkodzenia oksydacyjne komórek, co w rezultacie przyczynia się do rozpadu kolagenu.

Promieniowanie UV jest także główną przyczyną uszkodzeń DNA komórek macierzystych, co przyczyniać się może do wyczerpywania zasobów komórek macierzystych ostatecznie prowadząc do fotostarzenia się skóry [4]. Wywołane promieniowaniem uszkodzenia skóry skutkują również gromadzeniem się nieprawidłowej elastyny w powierzchownej warstwie skóry właściwej [17]. Procesy odpowiedzialne za fotostarzenie się skóry zachodzą przy każdej dłuższej ekspozycji na promieniowanie, jednakże przez lata nie są one widoczne. Fotostarzenie jest związane również z występowaniem uszkodzeń naczyń. Wyniki badań przeprowadzonych zarówno na ludziach, jak i na myszach (albinosach bez sierści) potwierdziły, iż przewlekłe promieniowanie UVB znacznie zwiększa unaczynienie skóry i angiogenezę [60]. Ekspozycja skóry na promieniowanie UV indukuje angiogenezę poprzez aktywację czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego i obniżenie poziomu trombospondyny-1 [61]. Powstające naczynia są jednak nadmiernie przepuszczalne i powodują zapalenie skóry z powodu ucieczki mediatorów stanu zapalnego, takich jak IL-8, co z kolei przyczynia się do fotostarzenia poprzez dalsze przyspieszenie degradacji macierzy pozakomórkowej i zmniejszenie unaczynienia skóry w stanie przewlekłym [61].

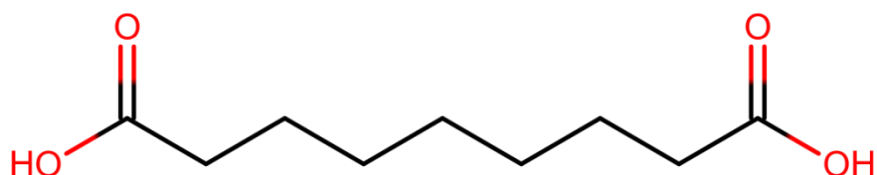
Skóra z objawami fotostarzenia charakteryzuje się podwyższoną elastozą i fragmentacją kolagenu poniżej połączenia skórno-naskórkowego. Grubość naskórka może być nieregularna, podobnie jak morfologia komórek naskórka. W fotostarzącej się skórze właściwej dochodzi do wzrostu ilości glikozaminoglikanów i proteoglikanów, prawdopodobnie wynikającego ze wzrostu MMP wraz ze zwiększoną liczbą hiperplastycznych fibroblastów [62]. Fotostarząca się skóra może wykazywać zwiększoną liczbę komórek zapalnych, takich jak mastocyty, eozynofile i komórki jednojądrzaste [35].

Zmarszczki, wiotkość i szorstkość skóry oraz teleangiektazje są klinicznymi cechami charakterystycznymi zarówno dla wewnętrznych, jak i zewnętrznych procesów starzenia się skóry, natomiast zmiany barwnikowe (w tym plamy soczewicowate, przebarwienia pozapalne, melasma), zażółcenie i nierówny koloryt skóry są silnie związane z zewnątrzpochodnym starzeniem się skóry, które zwykle obserwuje się na twarzy, szyi, klatce piersiowej i grzbietach dłoni [46, 63, 64]. Zarówno chronologiczne starzenie skóry i fotostarzenie często prowadzą do zmian w ilości, rodzaju i strukturze kolagenu czemu

towarzyszy spadek TGF- $\beta$ 1 i wzrost MMP [65],[66]. Zwiększona aktywność MMP-2 i MMP-9 degradujących kolageny typu IV, V, VII, IX, fibronektynę i elastynę prowadzi do obniżenia elastyczności oraz do suchości skóry [2]. Stosowanie kremu z filtrem i unikanie ekspozycji na słońce w godzinach południowych stanowią najlepszą metodą przeciwdziałania fotostarzeniu się skóry. Wiele substancji aktywnych, w tym kwas azelainowy, kwas fitowy, kwas askorbinowy i inne, dzięki swoim właściwościom antyoksydacyjnym wpływają korzystnie na kondycję skóry osób z widocznymi oznakami fotostarzenia.

### 2.3 Rola kwasu azelainowego w zabiegach kosmetycznych

Kwas azelainowy (AA *ang. azelaic acid*, Ryc. 1) jest związkiem organicznym należącym do grupy kwasów dikarboksylowych, o prostym, 9-cio węglowym łańcuchu ( $C_9H_{16}O_4$ ), który występuje w ziarnach zbóż (życie, jęczmieniu, pszenicy) [67]. Jest on także wytwarzany przez *Malassezia furfur* drożdżaki, które bytują na skórze i we włosach. Kwas ten po raz pierwszy wzbudził zainteresowanie ze względu na zdolność ograniczania gromadzenia barwnika poprzez kompetencyjne hamowanie tyrozynazy, co przyczyniło się do powstania idei zastosowania go w leczeniu przebarwień skóry [68]. Późniejsze badania wykazały również właściwości przeciwzapalne i przeciwbakteryjne kwasu azelainowego [68].



**Ryc. 1.** Struktura kwasu azelainowego

Kwas azelainowy działa bakteriobójczo na bakterie odpowiedzialne za powstawanie trądziku m.in. *Propionibacterium acnes* oraz *Staphylococcus epidermidis*, a także na wiele innych skórnych mikroorganizmów tlenowych, jak i beztlenowych, w tym *S. aureus* [68]. Właściwości przeciwzapalne kwasu azelainowego związane są z działaniem agonistycznym wobec receptora PPAR- $\gamma$  (*ang. peroxisome proliferator-activated receptor gamma*), który z kolei hamuje aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B [69]. Wykazano, iż krem zawierający 20% kwas azelainowy może zmniejszać liczbę zmian zarówno niezapalnych, jak i zapalnych oraz ma skuteczność porównywalną z innymi zatwierdzonymi standardowymi terapiami, w tym nadtlenkiem benzoilu i erytromycyną, a także tretinoiną, ale jest lepiej tolerowany,

powodując mniejsze ryzyko wystąpienia niepożądanych skutków ubocznych. [70]. Mechanizm działania kwasu azelainowego w leczeniu trądziku może wiązać się z jego hamującym wpływem na mitochondrialną oksydoreduktazę i syntezę DNA [71]. Ponadto, kwas azelainowy ogranicza wytwarzanie kwasów tłuszczowych i posiada działanie keratolityczne, co zmniejsza powstawanie czopów łojowych i zmian trądzikowych. Poprzez hamowanie dojrzewania keratynocytów (m.in. na drodze obniżenia syntezy prekursorów keratyny), kwas azelainowy reguluje procesy keratynizacji w naskórku ludzkim, co daje również efekt przeciwwzaskórnikowy [72, 73].

Badania *in vitro* wykazały, że kwas azelainowy działa jak zmiatacz rodników tlenowych, a także, że jest on odwracalnym inhibitorem tyrozynazy i innych oksydoreduktaz, w tym 5- $\alpha$ -reduktazy. Kwas azelainowy hamuje również wzrost i nasiloną aktywność melanocytów, a poprzez blokadę syntezy DNA i wpływ na oddychanie komórkowe melanocytów, redukuje przebarwienia. Produkty zawierające kwas azelainowy są wykorzystywane w celu zmniejszenia melasmy [9]. Badania *in vitro* potwierdziły zmniejszoną aktywność tyrozyny w obecności kwasu azelainowego [9]. Kwas azelainowy wykazuje również słabe działanie komedolityczne poprzez hamowanie proliferacji i różnicowania ludzkich keratynocytów, a także działanie przeciwzapalne poprzez hamowanie wytwarzania prozapalnych pochodnych tlenu w neutrofilach [74]. Może również zmniejszać produkcję sebum na czole, brodzie i policzkach poprzez hamujący wpływ na konwersję testosteronu do 5-dehydrotestosteronu [75].

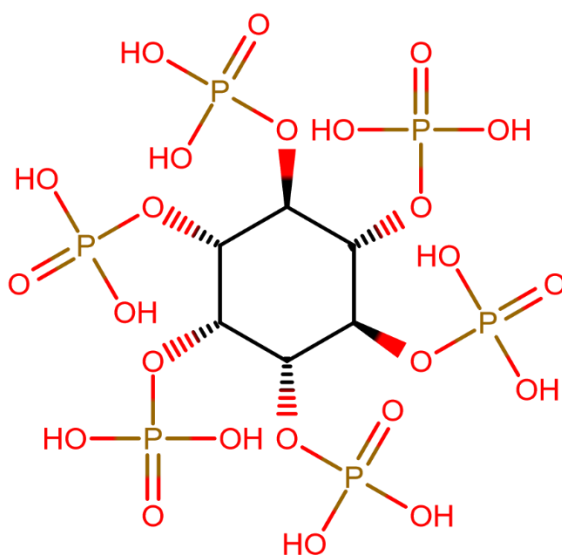
Działania niepożądane kwasu azelainowego są łagodne i przemijające. Około 5% do 10% osób zgłasza pieczenie lub kłucie, napięcie skóry i rumień w leczonym obszarze, ale zwykle trwa to tylko kilka tygodni [76].

Obecnie kwas azelainowy szeroko stosowany jako środek terapeutyczny w dermatologii. Uzyskał on akceptację Agencji ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration*) jako środek stosowany w leczeniu łagodnego do umiarkowanego zapalnego trądziku pospolitego oraz trądziku różowatego. Kwas azelainowy nie wykazuje toksyczności, teratogenności oraz nie posiada właściwości mutagennych. Stosowany miejscowo jest bezpieczny dla kobiet w ciąży i dlatego też jest klasyfikowany jako lek kategorii B. Może być on także stosowany w okresie laktacji [68].



## 2.4 Rola kwasu fitowego w zabiegach kosmetycznych

Kwas fitynowy (1,2,3,4,5,6-heksafosforan mio-inozytolu, IP6, Ryc. 2) stanowi główną formę magazynowania fosforu i inozytolu w ziarnach i nasionach roślin, szczególnie w okresie dojrzewania. Wysoką jego zawartość odnotowuje się w produktach zbożowych (np. mąkach żytnich, pszennych, itp.) [77]. Kwas fitynowy ma masę molową 660,04 g mol<sup>-1</sup>, a jego wzór cząsteczkowy to C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>. Cząsteczka kwasu fitynowego jest wysoce stabilna, dlatego może być przechowywana w postaci ciała stałego w obojętnych lub zasadowych roztworach wodnych przez miesiące lub lata [78].



**Ryc. 2.** Struktura chemiczna kwasu fitynowego

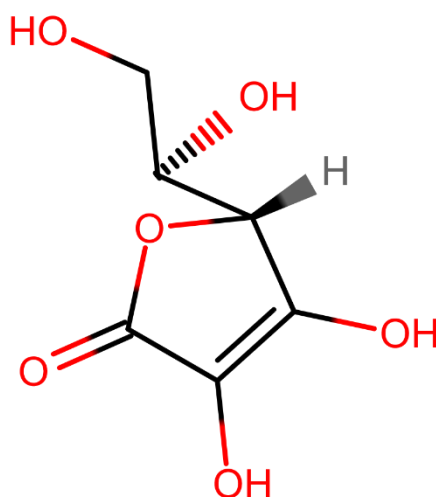
Unikalna struktura kwasu fitynowego pozwalająca na tworzenia chelatów z wielowartościowymi jonami metali, takimi jak wapń, cynk i żelazo i jest ona odpowiedzialna za jego charakterystyczne właściwości [78, 79]. Badania *in vitro*, jak i *in vivo* sugerowały silne działanie przeciwnowotworowe kwasu fitynowego [80-82]. Kwas fitowy wykazuje wysokie powinowactwo do żelaza, dzięki czemu skutecznie hamuje różne reakcje oksydacyjne, blokuje powstawanie rodników hydroksylowych i zmniejsza peroksydację lipidów [83]. Kwas fitynowy będący alfa-hydroksykwasem. Stymulując złuszczenie komórek w zewnętrznych warstwach skóry przyspiesza naturalny cyklu odmładzania jej komórek. Działanie peelingujące kwasu fitynowego jest podobne w działaniu do bardziej popularnego kwasu glikolowego, jednakże zastosowanie tego pierwszego nie wymaga neutralizacji po aplikacji. Wykazano, że kwas fitynowy jest skutecznym środkiem do peelingu chemicznego

w leczeniu melasmy i trądziku. Kwas fitynowy absorbuje nadmiar wapnia z powierzchni skóry, co zapobiega zatykaniu porów i zmniejsza wypryski. Osadzanie wapnia na powierzchni skóry związane jest z wpływem twardej wody i prowadzi do utraty wilgoci. Kwas fitynowy zmniejsza również widoczność porów oraz posiada działanie nawilżające. Dzięki swoim właściwościom przeciwutleniającym działa jako zmiatacz wolnych rodników, zapobiegając uszkodzeniom oksydacyjnym skóry. Stymulując złuszczenie martwych komórek skóry, kwas fitowy zwiększa obrót komórkowy, co powoduje rozjaśnienie pigmentacji i poprawę kolorytu skóry.

Kwas fitynowy uzyskał status substancji ogólnie uznanej za bezpieczną (GRAS) w USA, a także w Japonii, Chinach i Unii Europejskiej [78].

### 2.5 Rola kwasu L-askorbinowy w zabiegach kosmetycznych

Nagromadzenie uszkodzeń skóry, w których pośredniczą RFT, prowadzi do karcynogenezy i starzenia się skóry [84]. Dlatego endogenne czynniki przeciwutleniające są niezbędne do ochrony przed uszkodzeniami skóry wywołanymi promieniowaniem UVB. Witamina C (kwas L-askorbinowy, Ryc.3) jest silnym przeciwutleniaczem, działa jako donor elektronów i ogranicza wytwarzanie ROS, takich jak rodniki ponadtlenkowe, rodniki hydroksylowe i tlen singletowy powstające pod wpływem promieniowania [8, 85]. Witamina C jest w stanie redukować niestabilne rodniki tlenu, azotu i siarki, a także regenerować inne przeciwutleniacze w organizmie, takie jak alfa-tokoferol (witamina E) [86].



**Ryc. 3** Struktura kwasu askorbinowego

Sz szczególnie wysoką zawartość witaminy C odnotowuje się w owocach takich jak acerola, pomarańcza, cytryna, mandarynka i pomidor [87]. Wraz z wiekiem obniża się poziom

kwasu askorbinowego w skórze, zwłaszcza w naskórku [88]. Niedobór kwasu askorbinowego powoduje starzenie się skóry [87, 89]. Zatem suplementacja witaminy C jest jedną z atrakcyjnych strategii przeciwdziałania starzeniu się skóry [89].

Witamina C stanowi niezbędny kofaktor wspomagający aktywność katalityczną poprzez redukcję jonów metali w miejscu aktywnym enzymu, jednakże, ponieważ organizm ludzki nie może jej syntetyzować, musi być ona dostarczana do organizmu z pożywieniem [4, 90]. Witamina C jest kofaktorem regulatorowych hydroksylaz proliny i lizyny, które stabilizują trzeciorzędową strukturę cząsteczki kolagenu poprzez aktywację czynnika indukowanego niedotlenieniem (HIF-1, ang. *hypoxia-inducible factor 1*), kontrolując ekspresję genów zaangażowanych w syntezę kolagenu (Col. -1 i Col-3) oraz przebudowie tkanek jako kolagenazy [91, 92]. Kwas askorbinowy wpływa na wiele etapów produkcji kolagenu [85]. Może on zwiększać ekspresję TGF- $\beta$ 1 i aktywować szlaki sygnałowe, co ostatecznie przyczynia się do zwiększenia ekspresji genów kolagenu [85]. Stanowi także niezbędny kofaktor hydroksylazy prolilowej i hydroksylazy lizylowej, odgrywa kluczową rolę w dojrzewaniu kolagenu na etapie posttranslacyjnym [93]. Zaobserwowano także, że witamina C stymuluje również transkrypcję genów prokolagenu I i III w komórkach [94]. Wykazano, iż w hodowlach fibroblastów, kwas askorbinowy stymuluje biosyntezę kolagenu poprzez nasilenie transkrypcji genów, jak i stabilizację mRNA kolagenu typu I i III [95, 96]. Witamina C selektywnie zwiększa syntezę białek kolagenowych bez zwiększania syntezy białek niekolagenowych w hodowlanych ludzkich fibroblastów, a efekt ten związany był z podwyższonym poziomem mRNA prokolagenu typu I i typu III [96, 97]. Witamin C odgrywa również ważną rolę w wewnątrzkomórkowej kaskadzie sygnalizacyjnej, która prowadzi do proliferacji fibroblastów [98]. Oprócz zwiększania syntezy kolagenu w hodowanych fibroblastach, kwas askorbinowy zmniejsza produkcję metaloproteinaz macierzy, które degradują kolagen [99]. Stymuluje on również syntezę ceramidów z keratynocytów, prawdopodobnie przyczyniając się do tworzenia właściwej bariery lipidowej w naskórku [100]. Pullar i wsp. [87], wykazali, że kwas askorbinowy zapobiega peroksydacji lipidów i chroni keratynocyty wystawione na działanie promieniowania UV przed apoptozą. Dodatkowo kwas ten hamuje stany zapalne wywołane przez UVB poprzez obniżenie produkcji cytokin [101]. Witamina C jest stosowana w produktach kosmetycznych również w celu nadawania skórze blasku i rozświetlenia, ponieważ jest w stanie przeciwdziałać hiperpigmentacji [91]. Badania wskazują również, że witamina C jest skuteczna w leczeniu przebarwień, melasmy i plam słonecznych, co wydaje się być związane z jej zdolnością do hamowania co tyrozynazy,

enzymu ograniczającego melanogenezę [98]. Ponadto witamina C sprzyja różnicowaniu komórek keratynocytów i poprawia spójność skóry właściwej z naskórkiem [102]. Wyniki wskazują, że kwas askorbinowy zmniejsza ogólną metylację DNA, a konkretnie, reaktywuje ekspresję genów supresorowych nowotworów [103]. W ciągu ostatnich kilku lat pojawiło się wiele badań oceniających skuteczność witaminy C w walce z oznakami starzenia. Po zastosowaniu miejscowym Wit C może zneutralizować reaktywne formy tlenu wyzwolane przez ekspozycję na promieniowanie słoneczne i czynniki środowiskowe, takie jak dym i zanieczyszczenia [104]. Badania kliniczne potwierdziły, że miejscowe stosowanie kwasu askorbinowego może zwiększyć poziom kolagenu w skórze. W kontrolowanym placebo badaniu klinicznym poziomy mRNA kolagenu typu I i typu III w biopsji skóry wzrosły odpowiednio o 25% i 21% u 10 kobiet po menopauzie, u których stosowano na twarzy 5% kwas askorbinowy [99]. W kolejnym randomizowanym badaniu z udziałem 19 pacjentów, wykazano znaczącą poprawę w ocenie klinicznej, subiektywnej i fotograficznej głębokich zmarszczek, szorstkości, wiotkości, i ziemistości po zastosowaniu 10% kwasu askorbinowego na połowie twarzy w porównaniu z kontrolną połową twarzy [105]. Długotrwałe stosowanie AA na powierzchni naskórka może hamować fotostarzenie wywołane promieniowaniem UVB poprzez zmniejszenie degradacji kolagenu, w której pośredniczy TNF- $\alpha$  [84].

Ze względu na fakt, iż kwas askorbinowy jest związkiem hydrofilowym, jego wchłanianie przez skórę jest ograniczone [85, 93]. Warstwa rogowa naskórka pełniąc głównie funkcję barierową składa się z korneocytów zanurzonych w wysoce zorganizowanej macierzy lipidowej, w której woda stanowi jedynie 15–30%. Z tego powodu substancja hydrofilowa z trudem może przeniknąć przez tę warstwę hydrofobową do głębiej położonych warstw skóry [106, 107]. W fizjologicznym pH, witamina C występuje głównie w formie cząsteczki obdarzonej ładunkiem, co również ogranicza jej penetrację wewnątrz naskórka. Poza tym kwas askorbinowy jest niestabilny w środowisku wodnym, łatwo ulega utlenianiu pod wpływem ekspozycji na światło, wysokiego pH i podwyższonej temperatury. Łatwo ulega również degradacji w obecności niektórych enzymów i jonów metali, tworząc produkty pozbawione aktywności biologicznej [108]. W celu zwiększenia stabilności i powolnego kontrolowanego uwalniania kwasu askorbinowego opracowywane są wielofazowe emulsje, nanocząstki, preparaty liposomalne i inne [109, 110].

Zwiększenie skuteczności opisanych powyżej substancji można uzyskać poprzez zastosowanie metod ułatwiających ich dotarcie do głębszych warstw skóry, m.in. mezoterapię mikroigłową.

## 2.6 Zastosowanie mezoterapii mikroigłowej w zabiegach kosmetycznych

Mikronakłuwanie stanowi stosunkowo nową, minimalnie inwazyjną procedurę polegającą na powierzchniowym i kontrolowanym nakłuwaniu skóry za pomocą cylindra z bardzo cienkimi igłami [111]. W krótkim czasie, metoda ta zyskała masową popularność i akceptację. Tradycyjnie mezoterapia stosowana była w celu stymulowania produkcji kolagenu u osób z bliznami na twarzy i odmładzania skóry.

Standardowy dermaroller medyczny zawiera 8 rzędów z 192 cienkimi mikroigłami, zwykle o długości 0,5–3 mm i 0,1 –0,25 mm średnicy [112]. Mikronakłucia powodują kontrolowane uszkodzenie skóry uruchamiając kaskadę procesów zaangażowanych w gojenie się ran. W wyniku tego procesu uwalniane zostają czynniki wzrostu, m.in. płytkowy czynnik wzrostu (PDGF, ang. *platelet-derived growth factor*), transformujący czynnik wzrostu alfa i beta (TGF- $\alpha$  i TGF- $\beta$ ), białko aktywujące tkankę łączną, czynnik wzrostu tkanki łącznej i czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, ang. *fibroblasts growth factor*) [113]. Mikroigły uszkadzają także stare, stwardniałe blizny, przez co umożliwiają ich rewaskularyzację. Neowaskularyzacja i neokolageneza są inicjowane przez migrację i proliferację fibroblastów oraz odkładanie się macierzy międzykomórkowej [114, 115]. Macierz fibronektynowa tworząca się w ciągu 5 dni od mikrouszkodzenia, warunkuje odkładanie się kolagenu, które poprawia napięcie skóry zależne od kolagenu III. Stwierdzono, że głębokość neokolagenezy wynosi 5–600  $\mu\text{m}$  w przypadku zastosowania użyciu igły o długości 1,5 mm. Badanie histologiczne skóry poddanej 4 zabiegom mikronakłuwania w odstępie 1 miesiąca wykazało wzrost odkładania się kolagenu i elastyny o 400% po 6 miesiącach od zabiegu, któremu towarzyszyło pogrubienie warstwy kolczystej [116]. Zabieg mikronakłuwania poprawia także ułożenie wiązek włókien kolagenowych [117]. Efekty mikronakłuwania wynikają także ze wzrostu wewnętrznego potencjału elektrycznego, co powoduje zwiększoną aktywność komórek i uwalnianie różnych białek, potasu i czynników wzrostu z komórek na zewnątrz, a w konsekwencji wiąże się z migracją fibroblastów do miejsca urazu, i indukcją wytwarzania kolagenu [118]. Wyniki badań sugerują, iż stymulowana przez mikronakłuwanie nasilona ekspresja metaloproteinaz macierzy może zmniejszać przebarwienia.

Mikronakłuwanie stosowane jest także w celu ułatwienia dostarczanie różnych substancji czynnych przez barierę skórną, ponieważ pozwala na ominięcie warstwy rogowej naskórka i dotarcie bezpośrednio do unaczynionej skóry właściwej. Badania wykazały, iż mikronakłuwanie prowadzi do reorganizacji starych włókien kolagenowych i odkładania

nowego kolagenu i elastyny, co prowadzi do efektu napięcia skóry. Znaczący wzrost poziomu kolagenu typu I, III i VII, nowo syntetyzowanego kolagenu i tropoelastyny w stosunku do wartości wyjściowej zaobserwowano po 6 sesjach mikronakłuwania w odstępach 2-tygodniowych [119]. Przeskórna indukcja syntezy kolagenu wiąże się z osiągnięciem bardziej młodzieńczego wyglądu skóry poprzez redukcję zmarszczek, zmniejszenie wielkości porów oraz poprawę elastyczności. Efekty mikronakłuwania może spotęgować połączenie zabiegu z zastosowaniem miejscowego serum przeciwstarzeniowego np. z witaminą C. Przeciwwskazaniami do zastosowania mezoterapii mikroigłowej są aktywny trądzik, opryszczka wargowa lub inna miejscowa infekcja, przewlekłe choroby skóry o zaawansowaniu umiarkowanym do ciężkiego (np. egzema i łuszczyca), zaburzenia krzepnięcia, leczenie przeciwzakrzepowe, ekstremalna skłonność do powstawania keloidów oraz chemio/radioterapii [117, 120]. Wśród najczęstszymi działań niepożądanych związanych z zabiegiem można wymieni rumień i podrażnienie, które zwykle ustępują w ciągu kilku godzin. Inne odnotowane zdarzenia to hiperpigmentacja pozapalna, nasilenie trądziku i reaktywacja opryszczki, nadwrażliwość ogólnoustrojowa, alergiczne reakcje ziarniniakowe i miejscowe infekcje po użyciu niesterylnego narzędzia [115, 117, 121].

### III. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Celem przeprowadzonych badań *in vivo* było sprawdzenie skuteczności produktów kosmetycznych z kwasem azelainowym, kwasem fitowym, witaminą C oraz zabiegu mezoterapii mikroigłowej na poprawę elastyczności skóry, nawilżenia, redukcję przebarwień oraz zmniejszenie rumienia w terapiach przeciwstarzeniowych skóry twarzy.

Praca polegała na ocenie skuteczności wybranych peelingów chemicznych przy odpowiednim stężeniu, zmniejszając ryzyko wystąpienia reakcji nietolerancji. Zastosowanie wybranych składników aktywnych w zabiegach łączonych ma stanowić nowość w badaniach medycznych oraz sprawdzić efektywności i bezpieczeństwo stosowania nowo opracowanych protokołów zabiegowych.

#### **Cele pracy:**

- 1) Ocena porównawcza wpływu 20% i 30 % kwasu azelainowego na wybrane parametry skóry: nawilżenie, intensywność zaczerwienienia, poziom melaniny oraz elastyczność skóry.
- 2) Ocena porównawcza wpływu terapii skojarzonej kwasu azelainowego i kwasu fitowego oraz kwasu azelainowego, kwasu fitowego i witaminy C na parametry skóry takie jak: nawilżenie, intensywność zaczerwienienia, poziom melaniny oraz elastyczność skóry.
- 3) Ocena porównawcza wpływu terapii skojarzonej kwasu azelainowego i witaminy C oraz mezoterapii mikroigłowej z zastosowaniem tych samych składników aktywnych na wybrane parametry skóry: nawilżenie, intensywność zaczerwienienia, poziom melaniny oraz elastyczność skóry.
- 4) Subiektywna ocena efektów zabiegowych na podstawie autorskiej ankiety, po wykonanej serii zabiegów oraz ocena wystąpienia możliwych reakcji niepożądanych.

## IV. CZĘŚĆ BADAWCZA

### 4.1. Materiały i metodyka

#### 4.1.1 Charakterystyka grup badanych

Badaniem objęto 60 kobiet rasy kaukaskiej w wieku 35-60 lat o II i III fototypie skóry, które nie miały przeciwwskazań do wykonania zabiegów w ramach niniejszej pracy oraz nie korzystały w czasie trwania badania z innych zabiegów z zakresu kosmetologii i dermatologii estetycznej.

Badanie podzielone było na 3 części, w których analizowano wpływ różnych substancji aktywnych i technik aplikacji na parametry starzejącej się skóry.

1. Pierwsza grupa badana: 20 kobiet w wieku od 35 do 60 lat z fototypem II. Uczestniczki badania zostały poddane serii 8 zabiegów kwasem azelainowym. 20% kwas azelainowy po prawej stronie twarzy i 30% kwas po stronie lewej.
2. Druga grupa badana: 20 kobiet w wieku 35–60 lat z typem skóry II i III według Fitzpatricka, u których stosowano terapię skojarzoną złożoną z aplikacji 20 % kwasu azelainowego na całą twarz, 30% kwasu fitowego na całą twarz oraz 40 % kwasu L-askorbinowy na lewą połowę twarzy.
3. Trzecia grupa badana: 20 kobiet w wieku 40–65 lat z typem skóry II według Fitzpatricka, u których stosowano 20% kwas azelainowy + 40% kwas L-askorbinowy po prawej stronie twarzy i 20% kwas azelainowy + 10% kwas L-askorbinowy + mezoterapia mikroigłową po stronie lewej.

Kryteria włączenia do badań obejmowały płeć żeńską oraz obecność oznak starzenia się skóry, takich jak przebarwienia, rumień, teleangiektazje, zmarszczki i miejscowe uczucie suchości.

Z badania wykluczone zostały kobiety:

- z przewlekłą chorobą skóry
- z chorobami autoimmunologicznymi,
- z alergią na badane substancje czynne w wywiadzie
- z poważnymi schorzeniami, w tym z nowotworami.
- w ciąży
- karmiące piersią,
- stosujące doustne retinoidy,
- z opaloną skórą, korzystające z solarium



- z wirusowymi, bakteryjnymi i grzybiczymi zakażeniami skóry

Charakterystykę grup badanych przedstawiono w Tabeli 1.

**Tabela 1.** Charakterystyka grup badanych

Grupa	Substancja czynna - prawa strona twarzy	Substancja czynna - lewa strona twarzy	Badane parametry skóry	Liczba osób	Średnia wieku
I	20% kwas azelainowy	30% kwas azelainowy	Nawilżenie (Corneometer), nasilenie rumienia i zmian pigmentacyjnych (Mexameter), elastyczność skóry (Cutometer), dokumentacja fotograficzna Fotomedicus	20	48 lat
II	20% kwas azelainowy + 30% kwas fitowy	20% kwas azelainowy + 30% kwas fitowy + 40% kwas L-askorbinowy	Nawilżenie (Corneometer), nasilenie rumienia i zmian pigmentacyjnych (Mexameter), elastyczność skóry (Cutometer), dokumentacja fotograficzna Fotomedicus	20	46 lat
III	20% kwas azelainowy + 40% kwas L- askorbinowy	20% kwas azelainowy + 10% kwas L- askorbinowy + mezoterapia mikroigłowa	Nawilżenie (Corneometer), nasilenie rumienia i zmian pigmentacyjnych (Mexameter), elastyczność skóry (Cutometer), dokumentacja fotograficzna Fotomedicus	20	48 lat

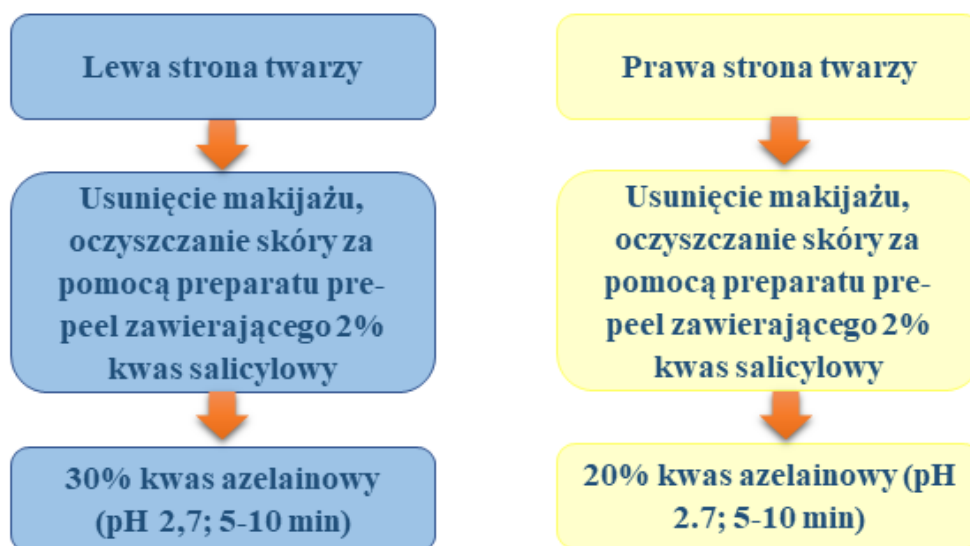
Wszystkie uczestniczki badania uzyskały szczegółowe informacje na temat planowanych zabiegów oraz możliwych działań niepożądanych, takich jak świąd, pieczenie, łuszczenie, zaczerwienienie oraz nadmierna wrażliwość skóry na czynniki zewnętrzne. W przypadku wystąpienia jakichkolwiek niepożądanych objawów pacjentki były zobowiązane do natychmiastowego poinformowania kosmetologa. W trakcie badania i miesiąc po jego zakończeniu uczestnikom zalecono stosowanie kremów z filtrem SPF 50 rano i w ciągu dnia (co 2-3 godziny), niekorzystanie z innych zabiegów kosmetycznych i dermatologii estetycznej oraz niezmiennianie preparatów do codziennej pielęgnacji przez cały okres trwania badania. Proszono je również o powstrzymanie się od spożywania kawy, gorących napojów lub pikantnych potraw co najmniej dwie godziny przed pomiarami. Wszystkie uczestniczki badania zobowiązały się do przestrzegania zaleceń. Pisemną świadomą zgodę na udział w badaniu uzyskano od każdej kobiety przed włączeniem do niego. Wszystkie procedury w badaniu wykonywane były pod nadzorem dermatologa. Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską, obowiązującymi normami polskimi i unijnymi, oraz zaleceniami

i wytycznymi Cosmetics Europe. Ponadto, uzyskało ono akceptację Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (nr RNN/211/18/KE).

#### 4.1.2 Stosowane metody zabiegowe

##### *Zabiegi eksfoliacji chemicznej*

W I części badania udział wzięło 20 kobiet w wieku od 35 do 60 lat (średnia wieku 48 lat). Uczestniczki badania zostały poddane serii 8 zabiegów kwasem azelainowym aplikowanym co 10-14 dni. Zabieg rozpoczynano od demakijażu całej twarzy delikatnym płynem micelarnym firmy Peel Mission®, następnie skórę odtłuszczo preparatem typu Pre Peel zawierającym 2% kwas salicyłowy. Kolejno przeprowadzono zabieg aplikując po stronie prawej 20% kwas azelainowy (Aza Peel 1, Peel Mission ® pH 2,7), natomiast po stronie lewej 30% kwas azelainowy (Aza Peel 2, Peel Mission ® pH 2,7) (Ryc. 4). Czas aplikacji preparatu kosmetycznego wynosił od pięciu do dziesięciu minut w zależności od reakcji skóry oraz odczuć pacjenta.

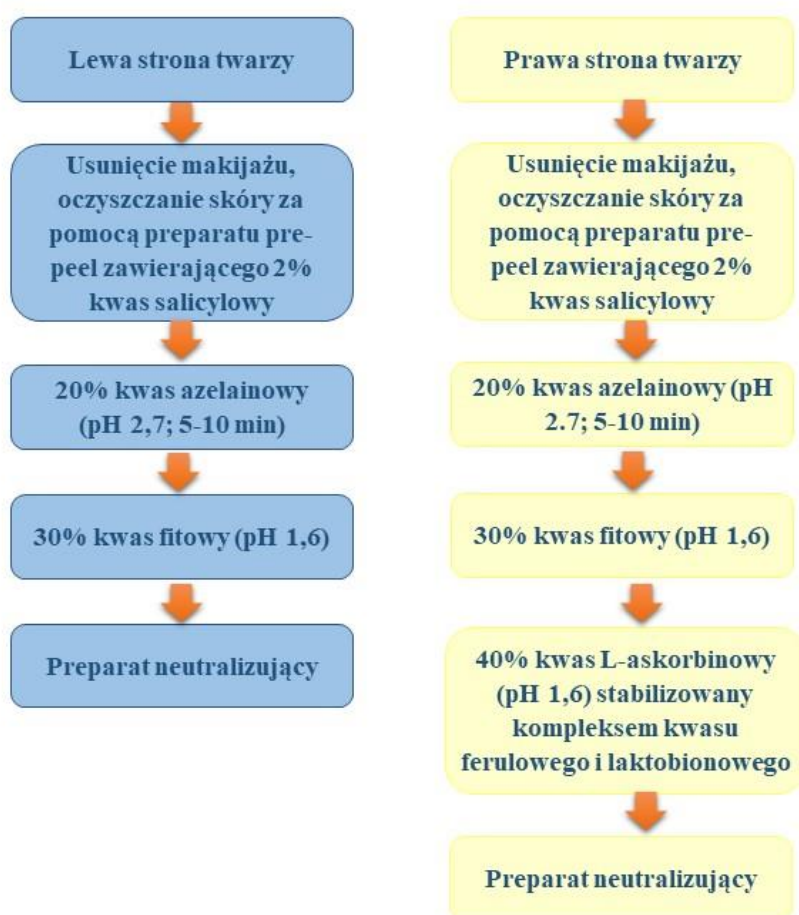


**Ryc. 4.** Zabiegi stosowane w ramach I części badania

W II części badania wzięło udział 20 kobiet w wieku 35 do 60 lat (średnia wieku 46 lat), wszystkie uczestniczki poddano serii 8 zabiegów wykonywanych co 7 dni. Po przeprowadzonej I części badania wybraliśmy do dalszej części badań 20 % kwas azelainowy, ponieważ 30% kwas azelainowy nie wykazał istotnej statystycznie większej poprawy mierzonych parametrów skóry, zatem aby zachować jak największe bezpieczeństwo w terapiach skojarzonych,

zdecydowaliśmy, iż kwas o niższym stężeniu będzie bezpieczniejszy w protokołach łączonych. W celu przygotowania skóry do zastosowania peelingów chemicznych, przed samym zabiegiem dokładnie skórę oczyszczano i odtłuszczano przy użyciu peelingu wstępnego zawierającego 2% kwas salicylowy. Początkowo, na całą twarz nakładano 20% kwas azelainowy (Aza Peel 1, Peel Mission® pH 2,7). Obserwowano reakcje skóry, czy u badanych nie wystąpią niepożądane reakcje skórne, m.in. zaczerwienienie, nadmierny świąd lub pieczenie. Po 5-10 minutach, na warstwę kwasu azelainowego nakładano 30% kwas fitowy (pH 1,6) (Phytic Peel delikatny, Peel Mission®).

Po kolejnych 5-10 minutach, wyłącznie na lewą stronę twarzy nakładano 40% kwas L-askorbinowy o pH 1,6 stabilizowany innowacyjnym kompleksem kwasów ferulowego i laktobionowego (Vitamin C Peel 2, Peel Mission®). Po 15 min zastosowano neutralizator, aby zrównoważyć działanie kwasów i wyeliminować ewentualne nieprzyjemne uczucie kłucia i pieczenia skóry (Ryc. 5).



**Ryc. 5** Zabiegi stosowane w ramach II części badania

## Zabiegi eksfoliacji chemicznej w połączeniu z mezoterapią mikroigłową

III część badania przeprowadzono na grupie 20 kobiet w wieku 40–65 lat (średnia wieku 48 lat). Uczestniczki poddano serii 8 zabiegów metoda „split face” polegającą na porównywaniu efektów różnych zabiegów stosowanych po każdej ze stron twarzy, wykonywanych co 7 dni. Przed zabiegiem wykonano demakijaż całej twarzy, skórę dokładnie odłuszczone preparatem „pre-peel” zawierającym 2% kwas salicylowy. Następnie na całą twarz nakładano 20% kwas azelainowy (pH 2,7) na 10 minut. Następnie nie zmywając kwasu azelainowego po prawej stronie twarzy zaaplikowano 40% witaminę C (pH 1,6) stabilizowaną nowym kompleksem kwasów ferulowego i laktobionowego. Po 15–20 min (w zależności od reakcji skóry) preparaty zostały zneutralizowane za pomocą wody.

Na lewą stronę twarzy, po 10 min od aplikacji kwasu azelainowego, nakładano neutralizator w celu osłabienia działania kwasów na skórę i zniesienia nieprzyjemnego uczucia pieczenia. Następnie nałożono 10% witaminę C i zastosowano mezoterapię mikroigłową za pomocą derma rollera przez 5–7 minut. W badaniu wykorzystano roller DNS Bielenda wyposażony w 192 igły (0,5 mm) ze stali nierdzewnej. (Ryc. 6).



Ryc. 6. Zabiegi stosowane w ramach III części badania

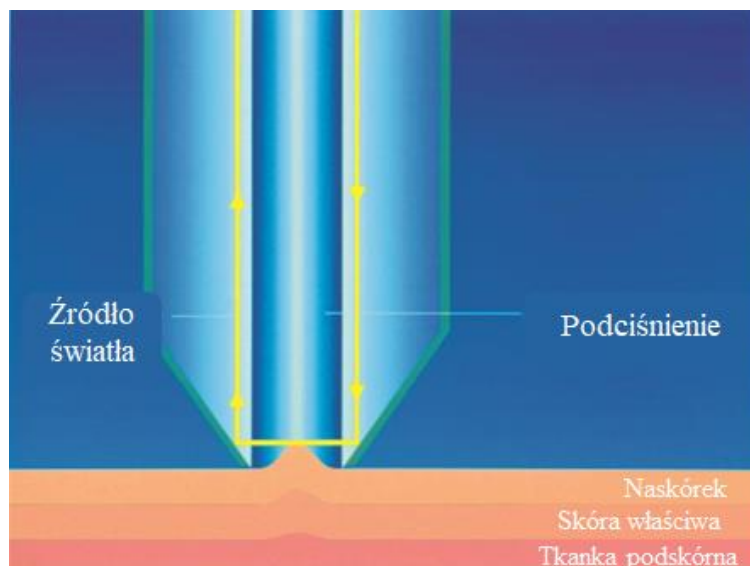
### 4.1.3 Ocena aparaturowa

Pomiary przeprowadzano na policzkach (2 cm poniżej dolnej powieki i 2 cm od nosa) oraz na czole (2 cm powyżej środka brwi) po prawej stronie i lewej strony twarzy za pomocą adaptera Multi Probe Systems (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Köln, Niemcy) w specjalnym pomieszczeniu o stałej temperaturze ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) i wilgotności (30–50%). Przed pomiarem wszystkie uczestniczki zostały zaaklimatyzowane w pomieszczeniu pomiarowym przez około 30 minut. Koloryt skóry mierzono w miejscu występowania przebarwień lub teleangiektazji. Wszystkie pomiary wykonano trzykrotnie w każdym miejscu i w analizie statystycznej zastosowano wartość średnią.

W I części badania, pomiary parametrów skóry przeprowadzano trzykrotnie według następującego schematu: T0 – pomiar przed zastosowaniem preparatu, T1 – pomiar po 7 zabiegach, T2 – pomiar po miesiącu od ostatniego zastosowania preparatu produkt. Parametry te mierzono za pomocą adaptera Multiprobe (MPA580) (Courage Khazaka GmbH Germany) i odpowiednio dobranych sond służących do oceny zmian skórnych, w tym Corneometer (nawilżenie skóry), Mexameter (nasilenie rumienia i zmian pigmentacyjnych) oraz Cutometer (elastyczność skóry). W przypadku badania II i III, pierwszy pomiar parametrów skóry wykonywano przed serią zabiegów (T0), następnie po serii ośmiu zabiegów (T1–8 tygodni) i 1 miesiąc po zakończeniu terapii (T2–12 tygodni). Oceniano następujące parametry: nawilżenie (Corneometer), koloryt skóry (Mexameter) oraz elastyczność (Cutometer).

#### *4.1.3.1. Ocena elastyczności skóry za pomocą aparatu Cutometer*

Ocenę właściwości mechanicznych skóry (elastyczności) przeprowadzano za pomocą aparatu Cutometer MPA 580 (Courage + Khazaka electronic GmbH). W trakcie pomiaru skóra jest zasysana do wnętrza sondy urządzenia (otwór o średnicy 2 mm), gdzie w wyniku działania podciśnienia ulega mechanicznemu odkształceniu (Ryc. 4). Dwie soczewki znajdujące się wewnątrz sondy przekazują promień światła od źródła transmitującego światło do odbiornika. Za pomocą tego systemu optycznego wbudowanego w sondę możliwy jest pomiar głębokości zasysania skóry do wnętrza. Intensywność światła zależy od głębokości zassania skóry. Po wykonaniu pomiaru, podciśnienie zostaje zniesione, skóra wraca do uprzedniego kształtu i zostaje uwolniona z sondy.



**Ryc. 7.** Zasada pomiaru za pomocą urządzenia Cutometer MPA 580 (<https://www.enviroderm.co.uk/products/cutometer-dual-mpa-580>)

Odporność skóry na działanie podciśnienia oraz zdolność skóry do powrotu do stanu pierwotnego (elastyczność) zostają przedstawione w postaci krzywych (głębokość penetracji w mm w czasie) podczas pomiaru. Krzywe te wykorzystywane są do wyliczenia parametrów związanych z właściwościami elastycznymi i wiskoelastycznymi powierzchni skóry.

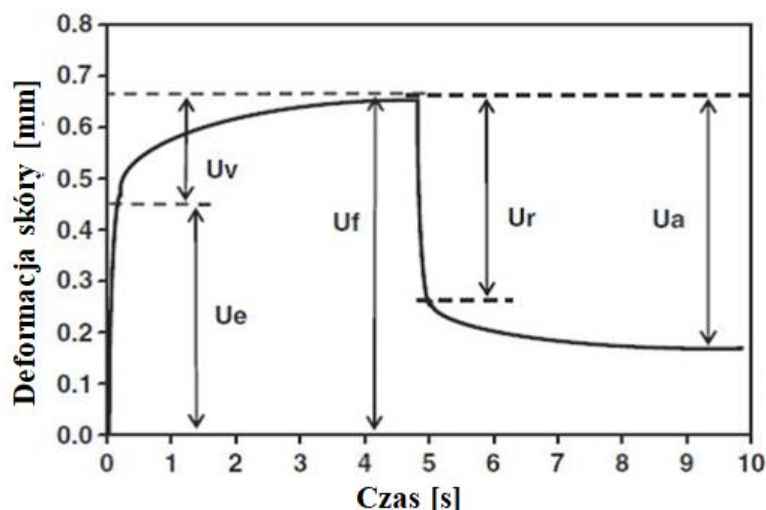
W badaniach własnych wykorzystano następujące parametry pomiarowe:

- tryb pomiaru:
- wartość podciśnienia: 450 milibarów,
- czas zasysania skóry do wnętrza sondy (on time) – 3 sekundy,
- czas relaksacji skóry po wyłączeniu podciśnienia (off-time): 3 sekundy,
- powtórzenia cykli pomiarowych: 3.

Do oceny skuteczności zabiegu, analizie poddano parametry R2 i R7.

- **R2** odzwierciedla stosunek całkowitej elastyczności skóry do całkowitego rozciągnięcia ( $U_a/U_f$ ).
- **R7** stanowi stosunek natychmiastowego powrotu do stanu pierwotnego po odkształceniu do całkowitego rozciągnięcia ( $U_r/U_f$ ).

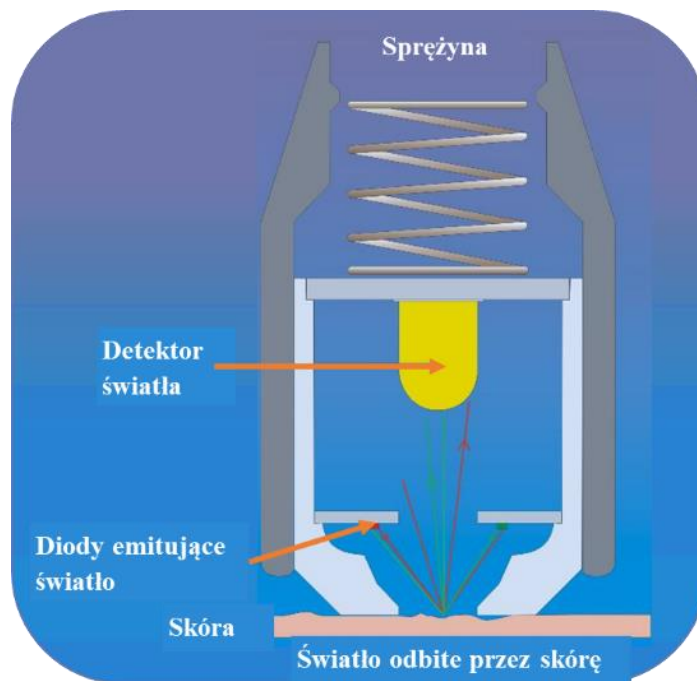
Wzrost wartości parametrów R2 i R7 świadczy o wzroście elastyczności skóry.



**Ryc. 8.** Charakterystyka krzywej pomiarowej w urządzeniu Cutometer [122].

#### **4.1.3.2 Ocena kolorytu skóry za pomocą aparatu Mexameter**

Aparat Mexameter MX 18 (Courage + Khazaka electronic), który mierzy poziom melaniny i hemoglobiny, wykorzystano do oceny fototypu skóry, nasilenia rumienia i zmian pigmentacyjnych. Mechanizm działania tego urządzenia opiera się na emitowaniu przez sondę światła o określonej długości fal (światło  $\lambda = 568 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$  (zielone),  $\lambda = 660 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$  (czerwone),  $\lambda = 870 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$  (podczerwień)) i pomiarze przez odbiornik ilości światła odbitego przez skórę. Na tej podstawie możliwe jest wyliczenie ilości światła zaabsorbowanego przez skórę (Ryc. 9). Zawartość melaniny w skórze określa się stosując światło o dwóch długościach fal absorbowanych przez pigmenty melaniny. Również przy pomiarze zaczerwienienia skóry wykorzystywane są dwie różne długości fal, jedna specyficzna dla absorpcji spektralnej hemoglobiny, natomiast druga pozwala na wyeliminowanie wpływu innych barw, w tym bilirubiny.



**Ryc. 9.** Mechanizm działania aparatu Mexameter ([https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure\\_Mexameter.p](https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Mexameter.p))

#### **4.1.3.3 Ocena nawilżenia skóry za pomocą aparatu Corneometer**

Uwodnienie naskórka, głównie warstwy rogowej oceniano za pomocą urządzenia Corneometer® CM 825. Mechanizm działania tego aparatu polega na pomiarze pojemności ośrodka dielektrycznego - warstwy rogowej skóry. Właściwości dielektryczne skóry zmieniają się wraz ze wzrostem jej uwodnienia. Wyższe wartości pomiaru wskazują większe nawilżenie naskórka.

#### **4.1.3.4 Dokumentacja fotograficzna**

Efekty zabiegów były także oceniane przez niezależnych ekspertów na podstawie dokumentacji fotograficznej Fotomedicus (każda uczestniczka badania miała wykonane zdjęcia z różnych profili: *en face*, pod kątem 45° oraz 90°). Niezależni eksperci porównywali wygląd skóry przed serią zabiegów i po ostatnim zabiegu. Oceniali oni następujące parametry: przywrócenie naturalnego kolorytu skóry, rozjaśnienie przebarwień, ogólną poprawę, łagodzenie zaczerwienienia skóry oraz zmniejszenie widoczności teleangiektazji i zmarszczek. Dla wszystkich zdjęć znormalizowano warunki oświetleniowe, co zagwarantowało spójność zdjęć wykonanych na różnych etapach badania umożliwiając dokładniejszą ocenę zmian skórnych i ich porównywanie.



#### **4.1.4 Ankieta satysfakcji uczestniczek z efektów zabiegów**

Po ukończeniu wszystkich zabiegów, uczestniczki wypełniały autorską ankietę satysfakcji z leczenia zawierającą pytania dotyczące stanu skóry twarzy przed zabiegiem oraz pytania oceniające efekty osiągnięte dzięki serii zabiegów. Kwestionariusz ten zawierał 15 pytań dotyczących subiektywnej opinii uczestników na temat obserwowanych zmian w wyglądzie skóry, w tym zmniejszenia widoczności zmarszczek, poprawy nawilżenia, elastyczności i napięcia skóry, a także zmniejszenia zaczerwienienia, nadwrażliwości i uczucia napięcia skóry. Do wyboru na pytania w ankiecie były następujące odpowiedzi: zdecydowanie tak, tak, nie wiem lub nie.

## V. WYNIKI

Szczegółowa analiza, interpretacja oraz dyskusja uzyskanych wyników badań została ujęta w formie trzech publikacji w tym dwóch czasopismach z listy JCR, załączonych poniżej.

1. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Assessment of effectiveness of 20% and 30% azelaic acid in anti-aging treatment. *Problemy współczesnej medycyny cz. III*, 2023, 7, 85-97. **20 pkt.**
2. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy-Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III. *J Cosmet Dermatol*. 2022 Dec;21(12):6830-6839. [doi: 10.1111/jocd.15359](https://doi.org/10.1111/jocd.15359). **70 pkt. IF = 1.621**
3. Markiewicz-Tomczyk, A.; Budzisz, E.; Erkiert-Polguj, A. A. Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments. *J. Clin. Med.* 2023, 12, 1869. **140 pkt. IF = 4.964**  
<https://doi.org/10.3390/jcm12051869>

## Publikacja 1:

*Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Assessment of effectiveness of 20% and 30% azelaic acid in anti-aging treatment. Problemy współczesnej medycyny cz. III, 2023, 7, 85-97*

Cykl artykułów naukowych będących podstawą mojej pracy doktorskiej składał się z trzech prac eksperymentalnych. W badaniach skupiłam się na przeciwstarzeniowym wpływie wybranych substancji aktywnych, wykorzystując nowatorską metodę aplikacji produktów warstwa na warstwę. W pierwszej części oceniałam skuteczność i bezpieczeństwo 20% kwasu azelainowego aplikowanego na prawą stronę twarzy oraz 30% kwasu azelainowego nakładanego na lewą stronę. Uczestniczki poddawane były serii 8 zabiegów wykonywanych co 10-14 dni. Efekty zastosowanej terapii badań mierzono przy użyciu standaryzowanego sprzętu Multi Probe Adapter (MPA) Courage-Khazaka, Cutometer i FotoMedicus. Po serii zabiegów uczestniczki badania wypełniały także autorską ankietę pozabiegową. Na podstawie I części badań można stwierdzić, że peelings zawierające 20% i 30% kwas azelainowy poprawiają teksturę skóry, a przede wszystkim zmniejszają poziom melaniny i rumień. Badania potwierdzają, że kwas azelainowy jest bardzo skuteczny w leczeniu rumienia i redukcji przebarwień skóry, które są jednym z objawów starzenia się skóry. Substancja poprawia również nawilżenie, zmniejsza zaczerwienienia, zwiększa elastyczność skóry, co wydaje się wynikać z hamowania produkcji wolnych rodników przez neutrofile. Zarówno 20% i 30% kwas azelainowy okazał się być bardzo dobrze tolerowany przez kobiety z różnymi rodzajami skóry, także cienką i wrażliwą, gdyż nie powoduje on nadmiernych podrażnień. Wszystkie pacjentki były zadowolone z uzyskanych efektów terapii przeciwstarzeniowej co wyraziły w wykonanej po serii badań autorskiej ankiecie dotyczącej satysfakcji z uzyskanych efektów terapii. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi. Kwas azelainowy stanowi jeden z bardzo popularnych składników kosmetyków przeciwstarzeniowych, szczególnie tych przeznaczonych do cery wrażliwej, skłonnej do zaczerwienień i podrażnień. Istotną zaletą kwasu azelainowego jest brak działania fototoksycznego przez co może być on stosowany przez cały rok.

# ASSESSMENT OF EFFECTIVENESS OF 20% AND 30% AZELAIC ACID IN ANTI-AGING TREATMENT

OCENA DZIAŁANIA PRZECIWSTRARZENIOWEGO  
20% I 30% PEELINGU Z KWASEM AZELAINOWYM

Agata Markiewicz-Tomczyk<sup>1</sup> ,  
Elżbieta Budzisz<sup>1</sup> , Anna Erkiert-Polguj<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Cosmetic Raw Materials Chemistry, Faculty of Pharmacy,  
Medical University of Lodz;

elzbieta.budzisz@umed.lodz.pl, agata.markiewicz@stud.umed.lodz.pl

<sup>2</sup> Department of Cosmetology and Aesthetic Dermatology, Faculty of Pharmacy,  
Medical University of Lodz;

anna.erkiert-polguj@umed.lodz.pl

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



**Abstract: Background.** The skin aging process is frequently associated with occurrence of discoloration, erythema and/or telangiectasia.

**Objectives.** The aim of the study was to assess the safety and effectiveness of cosmetic peels containing azelaic acid in two concentrations (20% and 30%) on facial skin in anti-aging treatments.

**Methods.** The study was conducted on a group of 20 women, mean age 48 years. The participants underwent a series of eight treatments performed every 10-14 days. The peels in two concentrations, 20% and 30%, were applied on the right and left side of the face, respectively. Hydration, erythema and skin tone were measured with the use of standardized equipment, Multi Probe Adapter (MPA) Courage-Khazaka, elasticity of the skin by Cutometer, and the photos were taken by FotoMedicus. After the series of treatments, the volunteers completed a questionnaire.

**Results.** The study showed an improvement in the overall skin condition in most of the participants. These improvements were assessed after eight and 12 weeks. In vivo studies confirmed the effectiveness of azelaic acid peels in anti-aging treatments and lack of side effects.

**Conclusion.** Peels with azelaic acid improve skin tone, hydration and elasticity, and decrease the visibility of hyperpigmentation.

**Keywords:** hyperpigmentation, erythema, anti-aging treatment, azelaic acid

## 1. Introduction

Aging is a physiological and irreversible process that takes place in our body (Sohal and Weindruch, 1996). Discoloration, redness and telangiectasia are very common cosmetic problems related to aging skin (Kakita and Lowe, 1998). Discoloration formation is associated with an increased activity and number of melanin-producing melanocytes, decreased melanin distribution by the feeding cells (macrophages) and an increased transfer of melanosomes to keratinocytes (Lynde et al., 2006; Halder and Richards, 2004). Vascular lesions are manifested as transient or permanent vasodilation of skin microcirculation mainly on the face, neck and décolleté. They are observed more frequently in women than in men, particularly in people with skin phototypes I and II (Petit and Piérard, 2003).

Azelaic acid is a 9-carbon dicarboxylic acid formed in the process of linoleic and linolenic acid peroxidation which occurs in the structures of the cell membrane. Azelaic acid is naturally found in cereal grains and, in small amounts, in the human body. This acid has a broad spectrum of activity. It is known for its whitening, antioxidant, anti-inflammatory, anti-blackhead and antibacterial properties. The anti-inflammatory and antioxidant effects of azelaic acid are associated with inhibition of the production of reactive oxygen species by keratinocytes, which is helpful in the treatment of rosacea. In vitro studies have confirmed that azelaic acid is a tyrosinase inhibitor (Schallreuter and Wood, 1990). Additionally, it can inhibit  $\alpha$ -reductase DNA polymerase and shows cytotoxic properties against skin pigment cells, thus brightening the skin. It also regulates sebum secretion by inhibiting the 5  $\alpha$ -reductase enzyme present in the cytoplasm of sebaceous gland epithelial cells. The antioxidant effect of the acid helps to block inflammatory reactions in the skin, reducing redness, erythema and existing inflammation (Balipa and Graupe, 1991; Breathnach, 1999). Moreover, it regulates the keratinization process by preventing blackheads. The dicarboxylic acid does not cause photosensitivity reactions and therefore it can be used even if the skin is exposed to the sun, provided that proper photoprotection is applied. Azelaic acid is used in treatment of sensitive and vascular skin since it does not cause excessive irritation (Mazurek and Pierzchała, 2016; Del Rosso and Kircik, 2014; Breathnach, 1996).

## 2. Objective of the study

The conducted study was aimed at comparing the efficacy of two concentrations of chemical peels containing azelaic acid in anti-aging treatments with the use of objective and subjective methods of skin measurement parameters.

## 3. Materials and methods

The test was conducted under the supervision of a dermatologist selected in accordance with the Declaration of Helsinki, relevant Polish and European Union standards, and the recommendations and guidelines of Cosmetics Europe. The study was also approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Lodz (No. RNN/281/16/KE 2017).

### 3.1. Participants

The study was performed in an in vivo testing laboratory. The inclusion criteria were the following: presence of wrinkles, loss of skin elasticity, skin dryness, redness and/or discoloration of facial skin. Candidates who applied other anti-aging therapies, used solariums, as well as pregnant and breastfeeding women were excluded. An in vivo study included 20 women aged from 35 to 60 years (mean age 48 years) with skin phototype II. All the subjects gave their informed consent to participate in the study. The volunteers underwent a series of eight treatments with azelaic acid applied every 10- 14 days. On the right side, 20% azelaic acid was used, whereas on the left side 30% azelaic acid. The time of application of the cosmetic formula ranged from five to ten minutes depending on skin reaction. The subjects were recommended to use sun protection (min. SPF 30) and avoid face tanning in the course of the therapy. They were also asked not to change their face care routine or apply any additional facial treatments. Throughout the whole study, all the

participants were regularly assessed by a dermatologist, and their tolerability was monitored as well.

### 3.2. Procedures of measurement

The measurement was taken after a 30-minute rest period. On the day of the test, the participants did not wear make-up. The skin of each patient taking part in the study was subject to a threefold control, according to the following schedule: T0 – measurement before the use of the product, T1 – measurement after seven treatments, T2 – measurement after one month of the last application of the product. Additionally, all the participants had photos taken with the use of the FotoMedicus system for a careful analysis of skin condition. One month after the last treatment, the volunteers were asked to fill in a questionnaire by which they assessed subjectively their skin condition after the whole series of treatments. The study also analyzed possible side effects that developed throughout the whole series of treatments and after its completion.

The measuring points were marked on the forehead and cheeks on both sides of the face, respectively. Each measurement was made three times in the same site on the skin.

In the *in vivo* testing laboratory, all the measurements were taken in controlled temperature ( $T = 19\text{--}21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) and humidity ( $H = 30\text{--}50\%$ ).

### 3.3. Outcome assessment

The skin parameters were measured by a Multiprobe Adapter (MPA580) (Courage Khazaka GmbH Germany). The *in vivo* technique involved assessment of skin lesions with the use of the following appropriately selected probes :

- Mexameter<sup>®</sup> MX18 probe for measurement of melanin and hemoglobin level (erythema), i.e., the two main dyes responsible for skin tone;
- Corneometer<sup>®</sup> CM 825 probe for measurement of skin hydration level based on water content in the stratum corneum;
- Sebumeter<sup>®</sup> SM 815 probe for estimation of skin sebum level, regardless of water content;
- Cutometer<sup>®</sup> MPA 518 probe for measurement of skin elasticity and assessment of the degree of skin aging. The parameter R2 reflects the ratio of total skin elasticity to total stretch.

Furthermore, the FotoMedicus system (Elfo, Łódź, Poland) was used to collect photographic documentation in the course of skin lesions treatment. Lighting conditions were normalized for all photos, which ensured a more accurate assessment of skin lesions, including discolorations, dilated vessels and wrinkles. A considerable advantage of this system is that it guarantees consistency of photos taken at different stages of a study, thus facilitating proper comparison and analysis.

### 3.4. Statistical analysis

The mean and standard deviation (mean $\pm$ SD) was applied as appropriate for description of parameters with normal distribution. Variables that were not normally distributed were expressed as a median and interquartile range (median (25%; 75%)). The assumption of normality was assessed based on the Shapiro-Wilk test. One-way repeated measures ANOVA (with either Greenhouse-Geisser or Huynh-Feldt correction for sphericity, where appropriate) was performed and followed by Bonferroni post hoc tests for statistical evaluation of differences in skin parameters occurring over time. Differences in percentage changes of the parameters (as opposed to the baseline values) between skin treated with AZA 20% and AZA 30% were compared using the Mann-Whitney test. P values lower than 0.05 were considered as statistically significant.

## 4. Results

### 4.1. Instrumental analysis of skin condition

The study was completed by a total of 20 volunteers (mean age 48 years) with Fitzpatrick skin type II. None of the subjects experienced any allergic reactions in the course of the procedures.

Prior to the treatments, skin condition of each subject was assessed. Also, each person qualified for the study was interviewed to determine the causes of their existing facial skin discoloration and erythema. None of the participants had used azelaic acid for the preceding six months. The series of treatment sessions resulted in an improvement of forehead and cheek hydration (Corneometer®). Skin color brightening (Mexameter®) was observed on the forehead and cheeks. Moreover, erythema (Mexameter®) decreased on the forehead and cheeks.

**Table 1.** Skin moisture content depending on the site and time of measurement.

Moisturize		Mean ± SD before treatment	Mean ± SD after 8 weeks	Mean ± SD after 12 weeks	P
Left side 30%	Forehead	46.1±8.3	50.4±7.4	59.2±8.8	P<0.0001
	Cheek	44.3±9.3	48.5±9.5	54.0±9.2	P<0.0001
Right side 20%	Forehead	46.1±7.1	50.9±9.0	56.5±7.8	P<0.0001
	Cheek	43.2±8.8	46.2±9.8	51.7±10.3	P<0.0001

**Table 2.** Melanin value depending on the site and time of measurement.

Melanin value		Mean ± SD before treatment	Mean ± SD after 8 weeks	Mean ± SD after 12 weeks	P
Left side 30%	Forehead	137.0±28.3	124.5±21.0	117.0±22.6	P<0.0001
	Cheek	121.3±20.7	111.1±27.9	99.8±24.5	P<0.0001
Right side 20%	Forehead	134.6±23.5	122.9±25.9	117.9±21.8	P<0.0001
	Cheek	112.9±24.5	106.6±29.0	95.4±22.8	P<0.0001

**Table 3.** Erythema value depending on the site and time of measurement.

Erythema		Mean ± SD before treatment	Mean ± SD after 8 weeks	Mean ± SD after 12 weeks	P
Left side 30%	Forehead	316.6±43.8	289.4±65.3	281.5±42.1	P<0.0001
	Cheek	329.3±50.1	310.6±89.3	291.6±53.6	P<0.0001
Right side 20%	Forehead	316.8±64.1	290.6±64.9	283.0±67.6	P<0.0001
	Cheek	331.5±79.4	321.3±86.9	294.8±73.2	P<0.0001

**Table 4.** Results of measurements with Cutometer®. R2 - determinant of gross skin elasticity.

R2 - determinant of gross skin elasticity		Mean±SD before treatment	Mean±SD after 8 weeks	Mean±SD after 12 weeks	Significance (Paired t test), P
Left side 30%	Forehead	0.394±0.128	0.469±0.118	0.472±0.148	P<0.0001
	Cheek	0.434±0.095	0.494±0.099	0.508±0.117	P<0.0001
Right side 20%	Forehead	0.409±0.125	0.445±0.146	0.458±0.143	P<0.0001
	Cheek	0.425±0.110	0.466±0.083	0.484±0.095	P<0.0001



The results of the study demonstrate that, as compared to the baseline, both azelaic acid 20% (AZA 20%) and azelaic acid 30% (AZA 30%) can produce a statistically significant improvement in all the measured skin parameters (Tables 1-3). During the series of treatments, a difference was noted between the two concentrations of azelaic acid used. The most important changes observed were skin tone parameters. Both melanin and hemoglobin levels were reduced.

As it is presented in Table 2 and Table 3, the melanin and erythema value level decreased significantly after the series of treatments. AZA 30% shows a slightly more intense skin-lightening effect. The value of melanin level on the left side (AZA 30%) decreased by about 17%, while on the right side (AZA 20%) by 14%. After the series of treatments, skin melanin content decreased more significantly on the AZA 30% side. According to the Mexameter<sup>®</sup> and FotoMedicus system, the intensity of erythema reduced considerably on both sides of the face. The erythema value decreased by approximately 11% on the whole facial surface. One month after the end of the series of treatments, hydration increased on both sides of the face, whereas the parameters of skin tone decreased, still showing a statistically significant difference as compared to the baseline.

There was no statistically significant difference between the two peels as regards percentage changes of the parameters, i.e., hydration, hyperpigmentation or erythema, as compared to the initial values for the two methods. They both resulted in an approximately 24% increase in hydration as well as in improved skin tone. Despite the lack of statistical significance, better effects were observed on the left side where the applied acid concentration was higher. The result of the measurement with Cutometer<sup>®</sup> (Table 4) indicates improvement of skin elasticity and firmness. The percentage improvement in skin elasticity (R2) among the subjects following the application of AZA 30% on the forehead and cheek (on the left side) was 20% and 17%, respectively. After the application of AZA 20%, an improvement of R2 was on the same level (12% and 14% on the forehead and cheek, respectively).

During the treatments, in a few cases there occurred mild side effects such as itching and redness. Immediately after the procedure, the skin of most of the subjects was flushed delicately. Following the procedure, only two patients experienced a greater discomfort such as burning sensation and mild skin peeling. After the third treatment, one of the participants observed acne vulgaris lesions on both sides of the face, however, they disappeared after a few days. A vast majority of the patients (approximately 90%) did not report any side effects.

The results recorded as photographic documentation are images taken with the use of the FotoMedicus system (Elfo) prior to and immediately after the series of treatments. Figures 1-4 demonstrate improvement in skin color, particularly reduction of erythema, redness and hyperpigmentation. Moreover, increased firmness and smoothness of wrinkles were also observed (Figures 3-4).



**Figure 1.** Patient (aged 35 years) before and after the series of treatments with azelaic acid. Reduced hyperpigmentation intensity.



**Figure 2.** Patient (aged 59 years) before and after the series of treatments with azelaic acid. Reduced redness intensity.



**Figure 3.** Patient (aged 51 years) before and after the series of treatments with azelaic acid. Improved overall skin condition.

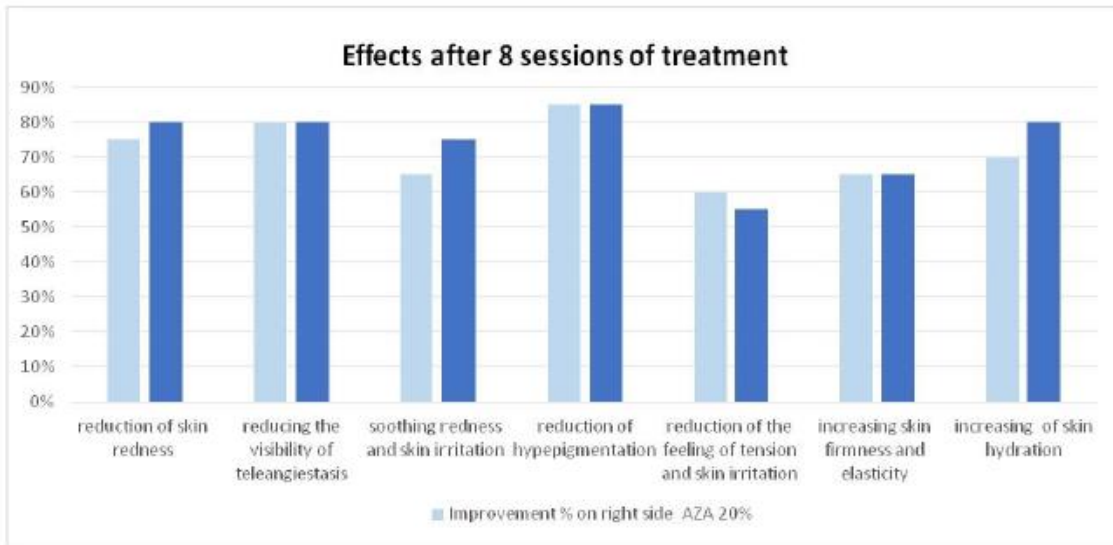


**Figure 4.** Patient (aged 61 years) before and after the series of treatments with azelaic acid. Reduced wrinkles around the eyes and improved skin firmness.

**4.2. Subjective assessment of the skin condition**

After the series of treatments, all the participants completed a questionnaire in which they subjectively assessed their satisfaction with the performed procedures and reported occurrence of side effects. The results showed that they were satisfied with effects achieved on both sides of the face treated by AZA 20% and AZA 30% (Fig. 5).

It was found that 75% of the subjects were highly satisfied, 20% were moderately satisfied, 5% were slightly satisfied, however, nobody was dissatisfied. A vast majority of the respondents expressed their willingness to apply AZA in the future.



**Figure 5.** Effects of eight sessions of the treatment assessed by the participants.

## 5. Discussion

Hyperpigmentation, loss of elasticity, dryness and wrinkles are characteristic for aging skin. The lipid barrier of the epidermis strongly inhibits penetration of active substances. Unfortunately, it may result in low bioavailability of active substances from cosmetics and, consequently, cause dissatisfaction with therapeutic effects. Azelaic acid is one of very popular ingredients of anti-aging cosmetics, especially those for sensitive skin prone to redness and irritations. A significant advantage of azelaic acid is lack of phototoxicity effects, therefore it can be safely applied all year long, also in summer, although photoprotection is still required (Sieber and Hegel, 2014; Tan et al., 2018).

The *in vivo* studies have confirmed the anti-aging properties of 20% and 30% azelaic acid. The instrumental analysis demonstrated improvement in skin elasticity, increased skin moisture, decreased melanin levels and reduced erythema. Also, the study participants objectively assessed the therapy effects as satisfactory. A slightly greater improvement in both parameters tested with the Mexameter, Corneometer and Cutometer on the cheeks and forehead, respectively, was observed on the left side (treated with AZA 30%), however, it was not statistically significant.

Most papers describe the effect of azelaic acid in melasma that can also be a sign of aging. In their study, Siddique et al. (2011) used a combination of 20% azelaic acid with 0.05% tretinoin cream in the treatment of melasma. Mazurek and Pierzchała (2016) studied different combinations of azelaic acid in dermocosmetic products applied for treatment of melasma for 24 weeks twice a day. The research performed by Faghihi et al. (2017) reported that 20% azelaic acid + 10% resorcinol + 6% phytic acid solution was an effective and safe peeling agent in the treatment of melasma and it was as powerful as 50% glycolic acid peel, whereas the side effects following application of triple combination were minimal. In our study, we also confirmed a reduction in melanin and erythema severity. Berlitz et al. (2019) developed an azelaic acid (AzA)-loaded nanoemulsion with hyaluronic acid. The cosmetic overcame the skin barrier and reached its deeper layers, thus improving the efficacy of AzA as a depigmenting agent. Therefore, the developed formulation demonstrated a high potential for treating hyperpigmentary skin disorders, including dermic melasma.

The study conducted by (Liu et al. 2006) proves that azelaic acid in 20% cream and 15% gel formulations is effective in the treatment of papulopustular rosacea, particularly in terms of decreased mean inflammatory lesion count and erythema severity. Wójcik et al. (2013) observed a significant increase in sebum secretion in aging women after the application of 20% azelaic peel and 40% mandelic peel. Both peels reduced the effects of the ageing processes, especially dryness, by regulating sebum secretion in the areas where it is considerably reduced.

Azelaic acid is also frequently applied in the treatment of acne. Szymańska et al. (2019) used 30% azelaic acid in the treatment of acne vulgaris.

Unfortunately, at present there are not many studies on the effectiveness of azelaic acid in anti-aging therapy. Our study confirmed the efficacy of azelaic acid in the treatment of skin discoloration which is one of the symptoms of skin aging. The substance also improves hydration, reduces redness, increases skin elasticity and firmness, which seems to result from inhibition of production of free radicals by neutrophils.

In the recent years, substances such as ferulic acid, L-ascorbic acid and retinol have become very popular as anti-aging agents used in therapies. Zduńska-Pęciak and Rotsztein (2020) compared effectiveness of eight treatments with ferulic acid to those combining ferulic acid with microneedling. The study demonstrated improvement in skin moisture, increase of elasticity and reduction in melanin value and erythema. The results were also confirmed by Cutometer. Similarly to our therapy, the treatments were very well tolerated and did not cause long-lasting side effects. Markiewicz et al. (2019) performed an instrumental analysis of the efficacy of L-ascorbic acid in anti-aging therapy. The results of microneedling with vitamin C reduced visibility of wrinkles and smoothed skin colour, and the improvement was observed after four treatments only. Zasada and Budzisz (2020) conducted an objective assessment of the efficacy of application of two retinol

concentrations (0.15% and 0.3% ) in daily face care for two months. Both products improved overall skin condition considerably, even skin colour, hydration and elasticity.

To sum up, the results of our study indicate that topical 20% and 30% azelaic acid is efficient in anti-aging therapy, causing few side effects. According to the statistical analysis, the application of 30% azelaic acid resulted in a greater reduction in the melanin level and erythema, increased hydration and improved elasticity (R2). However, the difference in the beneficial effects achieved after application of any of the two concentrations of azelaic acid was not statistically significant. Moreover, the questionnaire results confirmed satisfaction from the applied treatments. Many studies compare efficacy of a cream applied for a few weeks, whereas our research focused on treatments with azelaic peels. Our therapy proves to be safe and ensures a very convenient way of application.

## 6. Conclusions

The study shows that peels containing AZA 20% and AZA 30% improve skin texture and, most of all, reduce melanin level and erythema. The research confirms that azelaic acid is very efficient in treatment of erythema and reduction of skin hyperpigmentation. Based on the above results, it may be concluded that 20% and 30% azelaic acid is very well-tolerated by all skin types, also thin and sensitive ones. Moreover, it does not cause excessive irritation.

To sum up, the conducted study focuses mainly on the anti-aging properties of azelaic acid and a lack of post-treatment complications. This, in turn, ensures safety and very high tolerance of the therapy for patients.

## References

- Balipa L.M., Graupe K. 1991. The treatment of melasma. 20% azelaic acid versus 4% hydroquinone cream. *International Journal of Dermatology* 30(12), pp. 893–895.  
DOI: [10.1111/j.1365-4362.1991.tb04362.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1991.tb04362.x).
- Berlitz S.J., Villa D.D., Maschmann Inacio L.A., Davies, S., Zatta K. C., Guterres S.S., Kùlkamp-Guerreiro I.C. 2019. Azelaic acid-loaded nanoemulsion with hyaluronic acid – a new strategy to treat hyperpigmentary skin disorders. *Drug Development & Industrial Pharmacy* 45(4), pp. 642–650. DOI: [10.1080/03639045.2019.1569032](https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1569032).
- Breathnach A.S. 1996. Melanin hyper-pigmentation of skin: melasma, topical treatment with azelaic acid, and other therapies. *Cutis* 57(1), pp. 36–45.
- Breathnach A.S. 1999. Azelaic acid: potential as a general antitumoral agent. *Medical Hypotheses* 52(3), pp. 221–226. DOI: [10.1054/mehy.1997.0647](https://doi.org/10.1054/mehy.1997.0647).
- Del Rosso J.Q., Kircik L.H. 2014. Update on the management of rosacea: a status report on the current role and new horizons with topical azelaic acid. *Journal of Drugs in Dermatology* 13(12), pp. 101–107.
- Halder R.M., Richards G.M. 2004. Topical agents used in the management of hyperpigmentation. *Skin Therapy Letter* 9(6), pp. 1–3.
- Kakita L.S., Lowe N.J. 1998. Azelaic acid and glycolic acid combination therapy for facial hyperpigmentation in darker-skinned patients: a clinical comparison with hydroquinone. *Clinical Therapeutics* 20(5), pp. 960–970. DOI: [10.1016/s0149-2918\(98\)80077-5](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(98)80077-5).
- Liu R.H., Smith M.K., Basta S.A., Farmer E.R. 2006. Azelaic acid in the treatment of papulopustular rosacea: a systematic review of randomized controlled trials. *Archives of Dermatological Research* 142(8), pp.1047–1052. DOI: [10.1001/archderm.142.8.1047](https://doi.org/10.1001/archderm.142.8.1047).
- Lynde C.B., Kraft J.N., Lynde C.W. 2006. Topical treatments for melasma and post inflammatory hyperpigmentation. *Skin Therapy Letter* 11(9), pp.1–6.
- 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](https://doi.org/10.1111/jocd.12545).

- Mazurek K., Pierzchała E. 2016. Comparison of efficacy of products containing azelaic acid in melasma treatment. *Journal of Cosmetic Dermatology* 15(3), pp. 269–82. DOI: [10.1111/jocd.12217](https://doi.org/10.1111/jocd.12217).
- Ohe L.K., Muncie H.L., Philips-Savoy A.R. 2015. Rosacea: diagnosis and treatment. *American Family Physician* 92(3), pp. 187–196.
- Petit L., Piérard G.E. 2003. Skin-lightening products revisited. *International Journal of Cosmetic Science* 25(4), pp. 169–181. DOI: [10.1046/j.1467-2494.2003.00182.x](https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.2003.00182.x).
- Schallreuter K.U., Wood J.W. 1990. A possible mechanism of action for azelaic acid in the human epidermis. *Archives of Dermatological Research* 282 (3), pp. 168–171. DOI: [10.1007/BF00372617](https://doi.org/10.1007/BF00372617).
- Siddique M.R., Khondker K., Hazra S.C., Khan M.S.I. 2011. The efficacy of combination of 20% azelaic acid with 0.05% tretinoin cream in the treatment of melasma. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists* 21(4), pp. 265–269.
- Sieber M.A., Hegel J.K. 2014. Azelaic acid: Properties and mode of action. *Skin Pharmacology and Physiology* 27(1), pp. 9–17. DOI: [10.1159/000354888](https://doi.org/10.1159/000354888).
- Sohal R.S., Weindruch R. 1996. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 273(5271), pp. 59–63. DOI: [10.1126/science.273.5271.59](https://doi.org/10.1126/science.273.5271.59).
- Szymanska A., Erkiert-Polguj A., Budzisz E. 2019. Efficacy of 30% azelaic acid peel in the nonpharmacological treatment of facial acne. *The Journal of Dermatological Treatment* 32(3), pp. 291–296. DOI: [10.1080/09546634.2019.1657222](https://doi.org/10.1080/09546634.2019.1657222).
- Taheri A., Faghihi G., Shahmoradi Z., Nilforoushzadeh M.A. 2017. Solution of Azelaic Acid (20%), Resorcinol (10%) and Phytic Acid (6%) Versus Glycolic Acid (50%) Peeling Agent in the Treatment of Female Patients with Facial Melasma. *Advanced Biomedical Research* pp. 6–9. DOI: [10.4103/2277-9175.200784](https://doi.org/10.4103/2277-9175.200784).
- Tan A.U., Schlosser B.J., Paller A.S. 2018. A review of diagnosis and treatment of acne in adult female patients. *International Journal of Women's Dermatology* 4(2), pp. 56–71. DOI: [10.1016/j.ijwd.2017.10.006](https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2017.10.006).
- Wójcik A., Kubiak M., Rotsztein H. 2013. Influence of azelaic and mandelic acid peels on sebum secretion in ageing women. *Postepy Dermatologii i Alergologii* 30(3), pp. 140–145. DOI: [10.5114/pdia.2013.35614](https://doi.org/10.5114/pdia.2013.35614).
- Zasada M., Budzisz E. 2020. Randomized parallel control trial checking the efficacy and impact of two concentrations of retinol in the original formula on the aging skin condition: Pilot study. *Journal of Cosmetic Dermatology* 19(2), pp. 437–443. DOI: [10.1111/jocd.13040](https://doi.org/10.1111/jocd.13040).
- Zduńska-Pęciak K., Rotsztein H. 2020. The effectiveness of ferulic acid and microneedling in reducing signs of photoaging: A split-face comparative study. *Dermatologic Therapy* 33(6), pp. 1–7. DOI: [10.1111/dth.14000](https://doi.org/10.1111/dth.14000).

## Publikacja 2:

*Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy-Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III. J Cosmet Dermatol. 2022 Dec;21(12):6830-6839.*

Celem drugiej pracy była ocena nowej terapii skojarzonej kwasu azelainowego, kwasu askorbinowego i kwasu fitowego w grupie 20 kobiet w wieku 35–60 lat, z typem skóry II i III według Fitzpatricka. Wszystkie uczestniczki badania były poddane serii 8 zabiegów wykonanych

co 7 dni. Terapię przeprowadzano metodą „split-face”. 20% kwas azelainowy (pH 2,7) (Aza Peel 1, Peel Mission®) aplikowano na całą twarz sprawdzając, czy nie występują niepożądane reakcje skórne, w tym zaczerwienienie, podrażnienie. Następnie na warstwę kwasu azelainowego nakładano 30% kwas fitowy (pH 1,6) (Phytic Peel Gentel, Peel Mission®) na 5–10 min, w zależności od reakcji skóry. Następnie tylko na lewą stronę twarzy aplikowano kwas L-askorbinowy o stężeniu 40% i pH 1,6, stabilizowany innowacyjnym kompleksem kwasów ferulowego i laktobionowy (Vitamin C Peel 2, Peel Mission®) przez 15 min. Po tym czasie zastosowano neutralizator, aby zneutralizować działanie kwasów i wyeliminować ewentualne odczucie pieczenia skóry. Leczenie technikami łączonymi zapewniło nie tylko lepsze efekty terapeutyczne, ale także było bezpieczne i pozwoliło na skrócenie czasu terapii. W II części badania własnego wykazano korzystne działanie kwasu azelainowego, kwasu fitowego i witaminy C na parametry starzejącej się skóry w grupie 20 osób rasy białej z II i III typem skóry według Fitzpatricka. Miejscowe stosowanie (warstwa po warstwie) preparatów badanych z substancjami aktywnymi skutkowało poprawą elastyczności skóry, spłyceniem zmarszczek, zmniejszeniem przebarwień, rumienia i teleangiektazji oraz poprawą nawilżenia skóry. Zastosowanie 2-3 odpowiednio dobranych substancji czynnych sprawiło, iż ich działania się uzupełniały przynosząc lepszy efekt przeciwstarzeniowy. Zastosowana nowatorska technika warstwowej aplikacji dwóch lub trzech preparatów jeden po drugim nie spowodowała podrażnień ani reakcji alergicznych. Efekty terapii zostały także zauważone przez same osoby badane, które w autorskiej ankiecie przeprowadzonej po zakończeniu terapii wyraziły pełną satysfakcję. Również dane literaturowe potwierdzają właściwości przeciwstarzeniowe kwasu azelainowego, które związane są z jego działaniem przeciwzapalnym (ograniczenie aktywności neutrofilii oraz zapobieganie degradacji lipidów), działaniem przeciwrodnikowym (hamowanie aktywności oksydazy NADPH i późniejszej produkcji ROS), potencjałem antyoksydacyjnym (zmiatacz wolnych rodników) oraz działaniem przeciwkomedogennym (hamowanie

dojrzewania keratynocytów). Z kolei kwas fitowy stosowany jest głównie jako związek złączający i rozjaśniający skórę. Działa on jako naturalny przeciwutleniacz oraz hamuje produkcję melaniny. Kwas askorbinowy (witamina C) działa jak zmiatacz wolnych rodników (właściwości antyoksydacyjne), hamuje również uwalnianie anionów ponadtlenkowych przez makrofagi, zapobiegając w ten sposób fotostarzeniu skóry. Zastosowanie pojedynczego związku aktywnego zwykle koryguje jeden lub dwa oznaki starzenia. Jednak połączenie dwóch lub trzech składników czynnych może działać wielokierunkowo zapewniając lepsze, bardziej uogólnione efekty przeciwstarzeniowe niż pojedyncze substancje używane oddzielnie. Co również warto podkreślić, terapia jest bezpieczna i dobrze tolerowana.



# Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy—Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III

Agata Markiewicz-Tomczyk MSc<sup>1</sup> | Elżbieta Budzisz PhD<sup>1</sup> |  
Anna Erkiert-Polguj MD, PhD<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Cosmetic Raw Materials Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, Lodz, Poland

<sup>2</sup>Department of Cosmetology and Aesthetic Dermatology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, Lodz, Poland

## Correspondence

Anna Erkiert-Polguj, Department of Cosmetology and Aesthetic Dermatology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, Lodz, Poland.  
Email: [anna.erkiert-polguj@umed.lodz.pl](mailto:anna.erkiert-polguj@umed.lodz.pl)

## Abstract

**Introduction:** Vitamins C, E, and A and substances of plant origin, including azelaic acid and phytic acid are frequently used in cosmetic preparations to counteract oxidative stress and negative effects of free radicals. The aim of the study was to evaluate a novel combined therapy consisting of azelaic acid, ascorbic acid, and phytic acid applied layer on layer.

**Methods:** Twenty study participants received a series of eight treatments performed every 7 days. Twenty percent azelaic acid and then 30% phytic acid were applied to the entire face, while 40% L-ascorbic acid only on the left side. The preparations were applied layer by layer. Skin parameters were measured before the series of treatments (T0), after the series of eight treatments (T1–8 weeks), and 1 month after the end of the treatment (T2–12 weeks).

**Results:** The application of two and three active compounds resulted in a significant improvement in erythema and hyperpigmentation both on the forehead and the cheeks, however, more pronounced effects were observed when all the three active compounds were used. Both applied types of treatment considerably increased skin moisture. All the participants (100%) were satisfied with the effects of the treatment. A majority of them reported an improvement in skin hydration, firmness, and elasticity, more uniform skin tone and a reduction of skin redness and wrinkles.

**Conclusions:** Topical application of these active compounds resulted in improvement of skin elasticity and flexibility, reduction of wrinkles, hyperpigmentation, erythema, and telangiectasia as well as amelioration of skin tone.

## KEYWORDS

anti-aging, azelaic acid, combined therapy, phytic acid, vitamin C

## 1 | INTRODUCTION

Currently, the clients of cosmetology clinics expect the best results in the shortest time possible. Contemporary cosmetology focuses on combined therapies where the synergy of action of individual active substances strengthens the final effect of a treatment. The process of skin aging is multi-stage and associated with anabolic

changes predominating over catabolic changes. With age, endogenous and exogenous factors cause our skin to become thinner, paler, and wrinkled. Numerous discoloration lesions and telangiectasia may occur as a result of impairment of the melanogenesis process and changes in the skin vasculature. The deficiency of epidermal lipids leads to reduced cohesiveness of intercellular cement and an increased transepidermal water loss. Skin aging is influenced by

such processes as inflammaging, hormonal aging, oxidative stress, and photoaging.<sup>1-3</sup> Inflammaging is a phenomenon describing an age-related increase in chronic, systemic inflammation. This state is associated with an enhanced release of pro-inflammatory cytokines, stimulation of vital inflammatory pathways, and greater oxidative stress.<sup>4</sup> Consequently, adverse modifications occur within the skin, resulting in visible wrinkles, dryness, uneven pigmentation, etc.

Cosmetic preparations used to counteract the aging process show a wide spectrum of activity. Vitamins C, E, A and substances of plant origin, including azelaic acid and phytic acid (PA) are frequently used to reduce oxidative stress and negative effects of free radicals. Azelaic acid is a natural dicarboxylic acid produced by *Malassezia furfur*. It is also present in whole grains, rye, barley, and animal products. Numerous studies have proven antioxidant, anti-inflammatory, comedolytic and antibacterial properties of azelaic acid, which helps in the treatment of skin discoloration.<sup>5,6</sup> In turn, vitamin C is essential for the proper synthesis of collagen since it plays the role of a cofactor in the hydroxylation process. It is involved in the depigmentation processes in the skin, inhibition of melanogenesis. It also makes discolorations less visible. Moreover, it seals blood vessels and prevents telangiectasia.<sup>7</sup> Preparations containing vitamin C have been used in the treatment of couperose skin with erythema and telangiectasias. Furthermore, it is perfect for skin lightening therapy. PA is an organic compound found in grains and legumes, for example, corn, beans, and cereal bran.<sup>8</sup> This compound has antioxidant and anti-inflammatory properties and the ability to inhibit melanogenesis.<sup>9</sup> Moreover, due to its chelating activity, it helps to remove excess metals, especially iron, from the body.<sup>10</sup> Additionally, PA increases the penetration of active substances, improves skin hydration, regulates the secretion of sebum, and strengthens blood vessels.

## 2 | THE OBJECTIVE OF THE STUDY

The aim of the study was to evaluate a novel combined therapy consisting of azelaic acid, ascorbic acid, and PA in a group of 20 white Polish female volunteers, aged 35–60 years, with Fitzpatrick skin types II and III. The treatment with the use of combined techniques not only provides better therapeutic results but also ensures safety of the procedure and shortens the time of therapy.

## 3 | MATERIALS AND METHODS

### 3.1 | Participants

The study was conducted in a group of 20 female volunteers, aged 35–60 years, with Fitzpatrick skin types II and III. The inclusion criteria comprised female gender and the presence of signs of skin aging such as hyperpigmentation, erythema, telangiectasia, wrinkles, and local feeling of dryness. We excluded females with chronic skin condition or autoimmune disorders, history of allergy to the studied active compounds, and serious medical conditions including tumors. Also,

pregnancy, breastfeeding, use of oral retinoids, tanned skin, and viral, bacterial, and fungal infections of the skin were used as the exclusion criteria. All the patients were informed about the treatment procedures and possible side effects such as itching, burning, redness and excessive skin sensitivity to external factors. During the study and 1 month after the end of the series of treatments, the participants used creams with SPF 50 filter twice a day. Moreover, the subjects were asked not to apply any other cosmetic treatments or change cosmetic preparations for daily care throughout the study. All patients pledged to comply with the recommendations. Written informed consent was obtained from each patient before the enrolment. All the tests were performed under the supervision of a dermatologist in accordance with the Declaration of Helsinki, the applicable Polish and EU standards, and the recommendations and guidelines of Cosmetics Europe. Moreover, the study was approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Lodz (no. RNN/281/16/KE 2017).

### 3.2 | Procedures

All the volunteers received a series of eight treatments performed every 7 days. Before the treatment, the skin was thoroughly cleansed and degreased with a pre-peel product containing 2% salicylic acid to prime the skin prior to the application of chemical peels. The treatment was performed using the split-face method. For 5–10 min, 20% azelaic acid (pH 2.7) (Aza Peel 1, Peel Mission®) was applied to the entire face and during this time, we checked if any adverse skin reaction, including redness, irritation, occurred. Then, 30% PA (pH 1.6) (Phytic Peel gentle, Peel Mission®) was applied on the azelaic acid layer for 5–10 min, depending on the skin reaction. Subsequently, only the left side of the face was applied L-ascorbic acid with a concentration of 40% and pH 1.6, stabilized with an innovative complex of ferulic and ascorbic acids (Vitamin C Peel 2, Peel Mission®) for 15 min. After this time, a neutralizer was used to balance the effects of acids and eliminate any unpleasant sensations of stinging and burning of the skin (Figure 1). The skin tolerance to the applied active ingredients was assessed during the study. After the sessions of treatment, all the volunteers filled in the questionnaire concerning their satisfaction from the treatment. It included questions about facial skin condition before the procedure and questions assessing the effects achieved by the series of treatments. After the end of treatments, also independent experts assessed skin changes on the basis of photos from Fotomedicus (each patient had photographs taken from different profiles—en face, at an angle of 45°, at an angle of 90°). They assessed the percentage change in the following parameters: restoration of natural skin tone, lightening of discoloration, general improvement, soothing of skin redness, and reduction of the visibility of telangiectasia and wrinkles.

### 3.3 | Measurement of skin

The first skin measurement was performed before the series of treatments (T0), then after the series of eight treatments

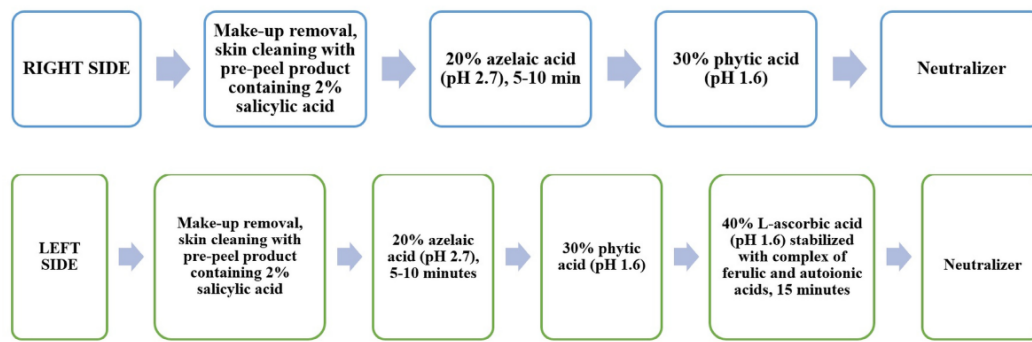


FIGURE 1 Summary of the method of study products application

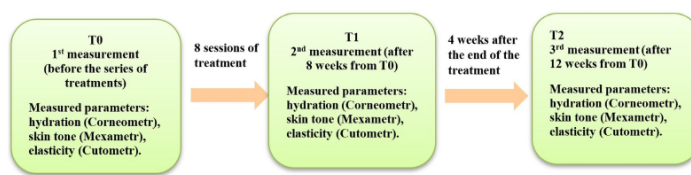


FIGURE 2 Summary of measurement points

(T1–8 weeks), and 1 month after the end of the treatment (T2–12 weeks) (Figure 2). The term treatment refers only to 8 weeks of active treatment sessions. The measurements were made on the cheeks (2 cm below the lower eyelid and 2 cm next to the nose) and the forehead (2 cm above the middle of the eyebrow) on the right and left side of the face with the use of the Multi Probe Adapter Systems (Courage+Khazaka Electronic GmbH) in the same room with constant temperature ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) and humidity ( $45\% \pm 5\%$ ) conditions. Before measurement, all the participants were acclimatized in the measuring room, for at least 15–20 min. All the measurements were performed three times in each place and the mean value was used. Additionally, pictures (in five positions) were taken with the use of medical photographic documentation system Fotomedicus (ELFO) for objective assessment of the effects after a series of treatments.

Mexameter MX 18, which measures melanin and erythema level, was used to assess the skin phototype, erythema, and pigmentation changes. Epidermal hydration was evaluated with the use of the Corneometer CM825 which measures the capacitance of a dielectric medium. Higher values of measurement indicate greater hydration of the epidermis. In turn, Cutometer MPA 580 (Courage+Khazaka electronic GmbH) was used to evaluate the mechanical properties of the skin. The following measurement parameters were used in the study: negative pressure 450 mbar, duration of skin suction (on-time) 3 s, skin relaxation time when negative pressure is deactivated (off-time) 3 s and three repetitions. Also, R2 and R7 parameters were assessed in this study. The R2 describes the total elasticity of the skin, including viscosity deformation ( $U_a/U_f$ ). While R7 is an index of immediate contraction

after complete deformation, it also relates to skin elasticity ( $U_r/U_f$ ). For both parameters, values approaching one indicate higher skin flexibility.

### 3.4 | Statistical analysis

The mean and standard deviation (mean  $\pm$  SD) were used for the 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 with the use of the Shapiro–Wilk test. One-way repeated measures ANOVA (with either Greenhouse–Geisser or the Huynh–Feldt correction for sphericity, where applicable) was performed and followed by Bonferroni post hoc tests for statistical evaluation of differences in normally distributed skin parameters over time. Differences in percentage changes of skin parameters as compared with baseline values ( $([x(t_1) - x(t_0)] / x(t_0)) * 100$ ) between different treatments and skin locations were tested according to the Mann–Whitney test.  $p$  values of  $<0.05$  were considered as statistically significant.

## 4 | RESULTS

The study was conducted among 20 female volunteers whose skin showed signs of aging such as discoloration, erythema, telangiectasia, wrinkles, and local feeling of dryness. The average age of the respondents was 46 years and most of them had skin phototype II on the Fitzpatrick scale.

Nineteen patients who tested the product did not develop any irritation or allergenic reactions. One of the patients observed redness and itching on the left side of the face directly after the third treatment, which disappeared after 2 or 3 h. After the subsequent sessions of the treatment, irritation was no longer reported.

The results of the study demonstrated that when compared with the baseline, the use of both azelaic acid with PA and azelaic acid with PA and with vitamin C lead to statistically significant improvement in all the measured skin parameters.

The use of azelaic acid with PA as well as azelaic acid with PA and with vitamin C resulted in significant improvement in erythema and hyperpigmentation both on the forehead and on the cheeks (Tables 1 and 2). More pronounced effects were observed when the three active compounds were used as compared to the combination of azelaic acid and PA. Moreover, the improvement was more visible on the cheek than on the forehead. The use of two active compounds was associated with a nearly 21% improvement of hyperpigmentation (both on the forehead and the cheek), while the use of three compounds ameliorated the hyperpigmentation by ca. 23% (comparison of skin condition following the last session of treatment vs. the baseline). The application of azelaic acid with PA and with vitamin C resulted in a 28.8% reduction of erythema on the forehead, 23.0% on the cheek, while the treatment with two compounds decreased erythema by 21.9% (forehead) and 23% (cheek).

The results of this study demonstrate that when compared with the baseline, both applied types of treatment markedly increased

skin moisture (Table 3). After the end of the treatment, skin moisture increased by 42.8% (forehead), 41.0 (cheek) on the left side treated with three compounds, and by 36.6% on the right side of the face where azelaic and phytic acids were applied. The study also demonstrated a significant improvement in R2 and R7 values (Tables 4 and 5, Figure 3).

Following the treatment completion, the participants filled in the questionnaire evaluating the effects of the therapy. The questionnaire comprised questions concerning i.a. the reduction of wrinkles, redness, hypersensitivity to external factors, improvement in skin hydration, elasticity, firmness, and the occurrence of side effects. Participants could choose one of 4 answers: definitely yes, yes, do not know, and no. All the participants (100%) were satisfied with the results of the treatment and expressed their willingness to undergo the procedure again. Approximately 90% of the participants reported an improvement in skin hydration, firmness and elasticity as well as more uniform skin tone and a reduction of skin redness when the combination of azelaic acid with PA and with vitamin C was used. The reduction of wrinkles was observed by 80% of the study participants. The application of azelaic acid with PA was also associated with improved skin condition, however, to a lesser extent as compared with the three-compound treatment (Figure 4).

Apart from subjective assessment of the patients (questionnaire), improvement of skin condition was also evaluated based on photographs taken with the use of the Fotomedicus system (Elfo), taken before and immediately after the series of treatments. All the photographs clearly indicate an improvement in skin color, reduction of

TABLE 1 Result of hyperpigmentation evaluation

Hyperpigmentation N = 20	Site of measurement	Time point			p
		Measurement I*	Measurement II <sup>#</sup>	Measurement III	
Left side (A+P+Vit C)	Forehead	139.7 ± 24.8	***114.7 ± 22.4	***107.3 ± 20.3 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	129.3 ± 27.6	***103.8 ± 24.8	***97.7 ± 23.3 <sup>###</sup>	<0.0001
Right side (A+P)	Forehead	137.1 ± 28.5	***111.4 ± 26.6	***106.6 ± 25.6 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	131.5 ± 18.6	***109.4 ± 20.1	***105.5 ± 21.9 <sup>##</sup>	<0.0001

Abbreviations: A, azelaic acid; P, phytic acid, vit C, vitamin C.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs. measurement I.

<sup>#</sup>p < 0.05, <sup>##</sup>p < 0.01, <sup>###</sup>p < 0.001 vs. measurement II.

TABLE 2 Result of erythema assessment

Erythema N = 20	Site of measurement	Time point			p
		Measurement I*	Measurement II <sup>#</sup>	Measurement III	
Left side (A+P+Vit C)	Forehead	337.5 ± 60.6	***267.3 ± 51.0	***240.2 ± 40.1 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	358.4 ± 86.8	***293.3 ± 54.1	***264.3 ± 54.1 <sup>###</sup>	<0.0001
Right side (A+P)	Forehead	323.6 ± 52.7	***263.5 ± 48.3	***245.5 ± 38.9 <sup>##</sup>	<0.0001
	Cheek	336.6 ± 60.5	***285.7 ± 54.0	***251.0 ± 48.2 <sup>###</sup>	<0.0001

Abbreviations: A, azelaic acid; P, phytic acid, vit C, vitamin C.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs. measurement I.

<sup>#</sup>p < 0.05, <sup>##</sup>p < 0.01, <sup>###</sup>p < 0.001 vs. measurement II.

hyperpigmentation, erythema, wrinkles, and telangiectasia achieved after the whole therapy (Figures 5–10).

Three independent specialists made a clinical evaluation of the photographic documentation by comparing the right and left sides, respectively, before the treatment series and 1 month after the completion of the whole procedure. On the left, there was a slightly greater improvement of visual natural color of the skin (23% on the left side vs. 22% on the right side). The lightening of discolorations was the same (14%) on both sides. Relief of skin redness and reduced visibility of telangiectasia were greater on the right side (16% right vs. 15% left). In general, visual improvement was more remarkable on the left side (23% left vs. 22.3% right). Wrinkle size decreased by 7.2% on both sides. No statistically significant differences between the right and left side of the face were observed in terms of the effects of the treatment.

## 5 | DISCUSSION

In modern cosmetology, chemical peels are a useful method for re-surfacing of aged and sun-damaged skin and treating various skin diseases. Currently, it is more and more popular to combine various active substances by applying them layer by layer in one treatment. This study was conducted among female volunteers whose skin showed discoloration, erythema, telangiectasia, wrinkles, and a feeling of local dryness. Wrinkles, hyperpigmentation, dryness, loss of elasticity are typical features of aging skin. Many studies confirmed the beneficial effects of azelaic acid, PA and vitamin C on skin condition and signs of aging. The purpose of our study was to assess the effectiveness of treatment including all the three active compounds applied layer by layer, without the washing stage. This is a new approach which has not been described in few other

TABLE 3 Result of hydration measurement

Hydration N = 20	Site of measurement	Time point			p
		Measurement I*	Measurement II <sup>#</sup>	Measurement III	
Left side (A+P+Vit C)	Forehead	42.6 ± 14.8	*53.1 ± 12.5	***61.9 ± 11.3 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	43.6 ± 7.0	**53.1 ± 6.5	***62.1 ± 8.2 <sup>###</sup>	<0.0001
Right side (A+P)	Forehead	43.9 ± 13.8	***53.7 ± 13.1	***58.3 ± 11.5 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	43.6 ± 7.0	**54.0 ± 6.9	***59.5 ± 8.1 <sup>###</sup>	<0.0001

Abbreviations: A, azelaic acid; P, phytic acid, vit C, vitamin C.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs. measurement I.

<sup>#</sup>p < 0.05, <sup>##</sup>p < 0.01, <sup>###</sup>p < 0.001 vs. measurement II.

TABLE 4 Result of R2 measurement

R2	Site of measurement	Time point			p
		Measurement I*	Measurement II <sup>#</sup>	Measurement III	
Left side (A+P+Vit C)	Forehead	0.445 ± 0.116	***0.663 ± 0.142	***0.772 ± 0.144 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	0.476 ± 0.107	***0.604 ± 0.080	***0.771 ± 0.128 <sup>###</sup>	<0.0001
Right side (A+P)	Forehead	0.468 ± 0.082	***0.665 ± 0.109	***0.701 ± 0.114	<0.0001
	Cheek	0.476 ± 0.108	***0.617 ± 0.096	***0.691 ± 0.091 <sup>###</sup>	<0.0001

Abbreviations: A, azelaic acid; P, phytic acid, vit C, vitamin C.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs. measurement I.

<sup>#</sup>p < 0.05, <sup>##</sup>p < 0.01, <sup>###</sup>p < 0.001 vs. measurement II.

TABLE 5 Result of R7 measurement

R7	Site of measurement	Time point			p
		Measurement I*	Measurement II <sup>#</sup>	Measurement III	
Left side (A+P+Vit C)	Forehead	0.269 ± 0.049	***0.356 ± 0.057	***0.403 ± 0.068 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	0.281 ± 0.050	***0.359 ± 0.050	***0.403 ± 0.052 <sup>###</sup>	<0.0001
Right side (A+P)	Forehead	0.269 ± 0.064	***0.353 ± 0.060	***0.398 ± 0.067 <sup>###</sup>	<0.0001
	Cheek	0.271 ± 0.054	***0.360 ± 0.079	***0.398 ± 0.084 <sup>###</sup>	<0.0001

Abbreviations: A, azelaic acid; P, phytic acid, vit C, vitamin C.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs. measurement I.

<sup>#</sup>p < 0.05, <sup>##</sup>p < 0.01, <sup>###</sup>p < 0.001 vs. measurement II.

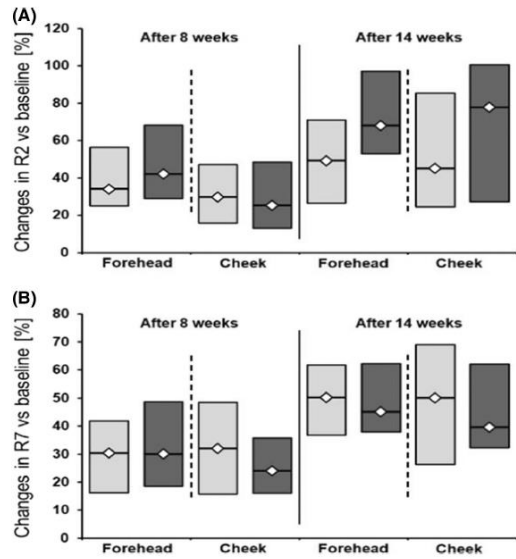


FIGURE 3 Comparison of changes in R2 and R7 after 8 and 14 weeks of treatment

FIGURE 4 Summary of skin condition improvement based on the results of the questionnaire

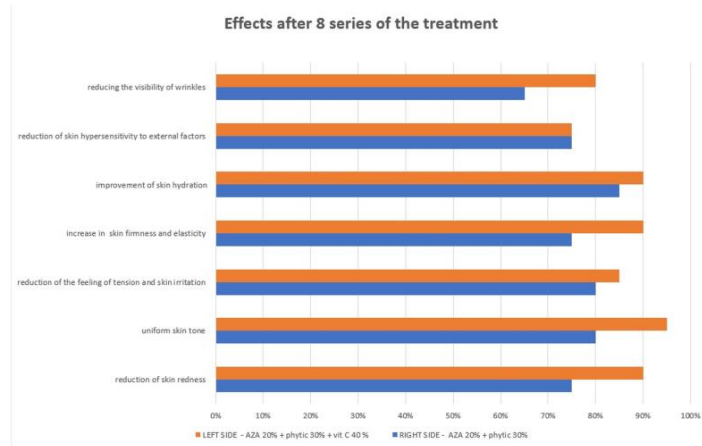


FIGURE 5 General improvement of skin condition—forehead (before vs. after the series of treatments)

studies.<sup>11,12</sup> Therapies based on the combination of active substances appear to be more effective due to their synergistic actions, and therefore, they are most frequently used. At the same time, they are more cost-effective than single therapies and reduce the risk of adverse reactions. The method used in our study did not cause occurrence of irritation or allergenic reactions in the majority of the patients. Only one participant reported redness and itching after the third treatment, however, those effects disappeared after subsequent sessions of the treatments. Therefore, we can conclude that the use of three compounds is safe. Similar results were obtained in another study which indicated no complications following the use of the combination of 20% azelaic acid, 10% resorcinol, and 6% PA.<sup>13</sup> Moreover, the treatment used in our study showed skin condition improvement assessed with the use of Mexameter, Corneometer, and Cutometer measurement on the cheek and the forehead. Azelaic acid is a popular ingredient of anti-aging cosmetics which has antimicrobial, anti-inflammatory and comedolytic properties.<sup>14</sup> The anti-aging properties of azelaic acid involve inhibition of the activity of neutrophils, hampering production of free radicals and scavenger-like activity.<sup>15</sup> Additionally, by blocking oxidoreductive mitochondrial enzymes and hindering both DNA synthesis and bacteria cellular proteins, this compound acts like a bacteriostatic agent on *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, and



FIGURE 6 General improvement of skin condition (reduction of unevenness of the skin surface)—cheek (before vs. after the series of treatments)



FIGURE 7 General improvement of skin condition (the lightening of discoloration and the reduction of wrinkles) (before vs. after a series of treatment)

*Staphylococcus aureus*.<sup>16</sup> It has been suggested that the lightening potential of azelaic acid may result from its involvement in competitive inhibition of tyrosinase which is a vital enzyme for melanogenesis.<sup>17</sup> However, it should be used carefully in patients with sensitive skin due to possible side effects, such as redness, irritation, and burning.<sup>18</sup> Many studies have demonstrated anti-aging properties of 20%–30% azelaic acid used alone or in combination. Anti-aging properties of azelaic acid are associated with its anti-inflammatory action (limitation of neutrophils activity, and prevention of sebum and lipids degradation), antiradical activity (inhibition of NADPH oxidase activity and subsequent ROS production), antioxidant potential (free radical scavenger), and anti-comedogenic effects (inhibition of keratinocytes maturation).<sup>19–23</sup> Kakita and Lowe<sup>24</sup> indicate

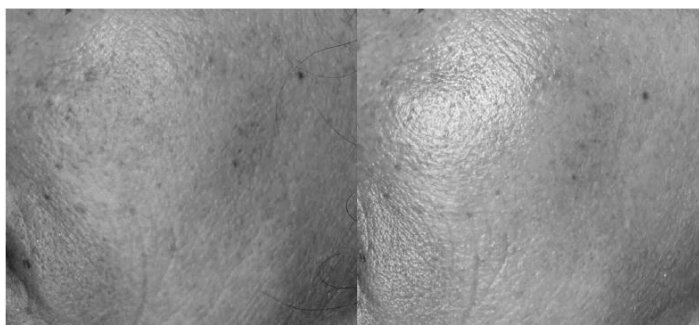
that 20% azelaic acid combined with 15% glycolic acid may increase the activity of other ingredients. Moreover, the authors observed its efficiency in diminishing hyperpigmentation. The effectiveness of azelaic acid in decreasing hyperpigmentation has been confirmed in many studies and for this reason the acid is widely used in cosmetology and dermatology.<sup>25–28</sup> Moreover, some studies have reported the role of this compound in the reduction of post-inflammatory hyperpigmentation, or hyperpigmentation caused by phototoxic reactions.<sup>29,30</sup> In turn, PA is an alpha-hydroxy acid used mainly for skin exfoliation and lightening.<sup>9</sup> It acts as a natural antioxidant. Moreover, PA as a chelating agent prevents the entrance of iron and copper into the cells and therefore hinders melanin production.<sup>13,31</sup> The results of studies have shown that the use of preparation containing PA and glycolic acid improved skin tone. The addition of 2% of PA exerts soothing effects. Ascorbic acid (vitamin C) acts as a scavenger of free radicals (antioxidant properties), it also suppresses the release of superoxide anions by macrophages, thus preventing oxidative damage to the skin. Moreover, it also inhibits melanogenesis via the interaction with copper ions to reduce dopaquinone.<sup>29</sup> Ascorbic acid has been shown to reduce the production of the immunosuppressive IL-10 and enhance the defense mechanisms in the skin.<sup>32</sup> However, this compound is unstable and undergoes quick oxidation in aqueous solutions. Alone, vitamin C is not very efficient in skin lightening; therefore, it is frequently used in combination with other depigmenting agents such as azelaic or phytic acid. Moreover, it stabilizes the collagen molecule tertiary structure, promotes collagen synthesis and its gene expression. It also enhances proliferation and migration of dermal fibroblasts.<sup>7,33,34</sup> All these properties make vitamin C an agent vital for the protection of the skin against UV exposure as well as aging. The results of studies demonstrated a marked decrease in erythema in capillary and photoaging skin following the treatment with 5% vitamin C concentrate.<sup>35</sup> Additionally, topical application of a cream with 3% vitamin C (daily for 4 months) was associated with improved density of the dermal papillae, probably via an impact on angiogenesis.<sup>36</sup>

In our study, the use of azelaic acid with PA (right side of the face) or azelaic acid with PA and with vitamin C (left side of the face) was associated with a significant improvement in erythema and hyperpigmentation both on the forehead and the cheeks. The

**FIGURE 8** Reduction of erythema and telangiectasia (before vs. after a series of treatment)



**FIGURE 9** Reduction of hyperpigmentation—left sight (before vs. after a series of treatment)



**FIGURE 10** Reduction of hyperpigmentation—right sight (before vs. after a series of treatment)



addition of vitamin C enhanced the observed beneficial effects. The use of three active compounds resulted in an over 23% reduction in hyperpigmentation and a 28.8% decrease in erythema on the forehead (23.0% on the cheek). The therapy with azelaic acid with PA brought only slightly weaker effects (reduction of hyperpigmentation and erythema by ca. 21.0% and ca. 23%, respectively). The synergistic actions of the aforementioned active compounds produce the great effects obtained in this study. Indeed, studies prove that dermocosmetics containing 5%–20% azelaic acid combined with PA, ferulic acid, 4 N-butyl resorcinol,

or mandelic acid appear to be the most effective preparations in lightening of hyperpigmentation.<sup>25</sup> The applied treatment was also associated with an increase in skin moisture by 42.8% (forehead), 41.0 (cheek) on the left side treated with three compounds, and by 36.6% on the right side of the face where azelaic and phytic acids were used. The stimulation of ceramides synthesis by vitamin C helps to maintain proper skin hydration as a result of the formation of the stratum corneum barrier lipids. Also, the results of a double-blind randomized trial in which cream with 5% vitamin C was used for more than 6 months indicated a positive impact on appearance



of photodamaged skin, mirrored by improved skin moisture, tone, and pigmentation as well as smoothing of skin surface.<sup>37</sup>

In this study, we also observed a significant improvement in skin elasticity and flexibility. The treatment resulted in a marked increase in the measured parameters, that is, R2 and R7 indicating total skin elasticity (including viscosity deformation) and immediate contraction after total deformation, respectively. This effect seems to be mostly associated with the aforementioned beneficial impact of vitamin C on collagen and fibroblasts.

Apart from the improvement in the skin parameters assessed with the use of appropriate devices, satisfaction with visible effects was also expressed by the participants. They all declared their willingness to undergo the treatments again. A majority of the women participating in our study observed improved skin hydration, firmness and elasticity, more uniform skin tone, and reduction of skin redness and wrinkles. Apart from subjective assessment of the patients (questionnaire), improvement of skin condition was also demonstrated on photographs taken with the use of the Fotomedicus system (Elfo). They show better skin color, reduction of hyperpigmentation, erythema, wrinkles, and telangiectasia following the series of the treatments.

The use of a single active compound usually corrects one or two signs of aging. For example, preparations containing azelaic acid are usually used to treat melasma, while PA is added to cosmetics due to its good anti-inflammatory activity. However, the combination of two or three components can act in a multidirectional manner thus providing better, more generalized anti-aging effects than single components when used separately. What is also worth emphasizing, the therapy is safe and well-tolerated.

This study has some limitations. The first is the small sample size which may result in the difficulties to identify significant relationships in some data. Moreover, we faced some limitations concerning the equipment. Since this study received no funding, we had to rely on the available devices, therefore, only MPA tests were possible—Mexameter, Corneometer, Cutometer, and Fotomedicus. We are aware that more sophisticated devices could be used to measure these parameters more objectively.

## 6 | CONCLUSIONS

This study demonstrated beneficial effects of azelaic acid, PA, and vitamin C on the condition of aging skin in a group of 20 white Polish female volunteers, aged 35–60 years, with Fitzpatrick skin types II and III. Topical application (layer by layer) of these active compounds resulted in improvement of skin elasticity and flexibility, reduction of wrinkles, hyperpigmentation, erythema, and telangiectasia as well as amelioration of skin tone. This novel technique of subsequent application of two or three preparations, layer by layer, did not cause any irritation or allergic reactions. The obtained results confirmed that the application of two or three components with multidirectional effects complementing one another provides better, more generalized anti-aging effects.

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## ETHICS STATEMENT

All the tests were performed under the supervision of a dermatologist in accordance with the Declaration of Helsinki, the applicable Polish and EU standards, and the recommendations and guidelines of Cosmetics Europe. Moreover, the study was approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Lodz (no. RNN/281/16/KE 2017). All participants gave written informed consent to be enrolled in the study and gave their agreement to publish their photographs in the articles.

## ORCID

Anna Erkiert-Polgui  <https://orcid.org/0000-0002-5457-2528>

## REFERENCES

- Kohl E, Steinbauer J, Landthaler M, Szeimies RM. Skin ageing. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25(8):873-884.
- Yaar M, Gilchrist BA. Skin aging: postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Clin Geriatr Med*. 2001;17(4):617-630. v.
- Noszczyk M. Przyczyny starzenia się skóry i wybrane możliwości przeciwdziałania. *Nowa Klin*. 1994;9:47-49.
- Guimarães GR, Almeida PP, de Oliveira SL, Rodrigues LP, de Carvalho JL, Boroni M. Hallmarks of aging in macrophages: consequences to skin inflammaging. *Cell*. 2021;10(6):1323.
- Reich AS J. Kwas azelainowy w podłożu żelowym: zastosowanie w trądziku zwykłym i trądziku różowatym. *Dermatol Klin*. 2003;5:223-226.
- Bertuzzi A, Gandolfi A, Salinari S, et al. Pharmacokinetic analysis of azelaic acid disodium salt. A proposed substrate for total parenteral nutrition. *Clin Pharmacokinet*. 1991;20(5):411-419.
- Kishimoto Y, Saito N, Kurita K, Shimokado K, Maruyama N, Ishigami A. Ascorbic acid enhances the expression of type 1 and type 4 collagen and SVCT2 in cultured human skin fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;430(2):579-584.
- Higuchi M. Chapter 15 – Antioxidant properties of wheat bran against oxidative stress. In: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, eds. *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health*. Academic Press; 2014:181-199.
- Houshmand EB. Effect of glycolic acid, phytic acid, soothing complex containing emulsion on hyperpigmentation and skin luminosity: A clinical evaluation. *J Cosmet Dermatol*. 2021;20(3):776-780.
- Hou D, Yousaf L, Xue Y, et al. Mung bean (*Vigna radiata* L.): bioactive polyphenols, polysaccharides, peptides, and health benefits. *Nutrients*. 2019;11(6):1238.
- Kligman DE, Draeos ZD. Combination superficial peels with salicylic acid and post-peel retinoids. *J Drugs Dermatol*. 2016;15(4):442-450.
- Katz BE, Lewis J, McHugh L, Pellegrino A, Popescu L. The tolerability and efficacy of a three-product anti-aging treatment regimen in subjects with moderate-to-severe photodamage. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2015;8(10):21-26.
- Faghihi G, Taheri A, Shahmoradi Z, Nilfroushzadeh MA. Solution of azelaic acid (20%), resorcinol (10%) and phytic acid (6%) versus glycolic acid (50%) peeling agent in the treatment of female patients with facial melasma. *Adv Biomed Res*. 2017;6:9.
- Strauss JS, Krowchuk DP, Leyden JJ, et al. Guidelines of care for acne vulgaris management. *J Am Acad Dermatol*. 2007;56(4):651-663.

15. Gibson JR. Rationale for the development of new topical treatments for acne vulgaris. *Cutis*. 1996;57(1 Suppl):13-19.
16. Holland K, Bojar R. Antimicrobial effects of azelaic acid. *J Dermatol Treat*. 1993;4(Suppl 1):S8-S11.
17. Kaliterna D, Zuzul K, Kovacevic I. Melasma-Review of current treatment modalities and efficacy assessment of a new resorcinol-based topical formulation. *J Clin Cosmet Dermatol*. 2017;1(3). doi:10.16966/2576-2826.116
18. Tan AU, Schlosser BJ, Paller AS. A review of diagnosis and treatment of acne in adult female patients. *Int J Womens Dermatol*. 2017;4(2):56-71.
19. Pelle MT, Crawford GH, James WD. Rosacea: II. Therapy. *J Am Acad Dermatol*. 2004;51(4):499-512. quiz 3-4.
20. Akamatsu H, Komura J, Asada Y, Miyachi Y, Niwa Y. Inhibitory effect of azelaic acid on neutrophil functions: a possible cause for its efficacy in treating pathogenetically unrelated diseases. *Arch Dermatol Res*. 1991;283(3):162-166.
21. Jones DA. Rosacea, reactive oxygen species, and azelaic acid. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2009;2(1):26-30.
22. Rigano L, Cucchiara M. Azeloyl-glycine: a new active in skin disequilibrium. *J Appl Cosmetol*. 2003;21:177-188.
23. Fitton A, Goa KL. Azelaic acid. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in acne and hyperpigmentary skin disorders. *Drugs*. 1991;41(5):780-798.
24. Kakita LS, Lowe NJ. Azelaic acid and glycolic acid combination therapy for facial hyperpigmentation in darker-skinned patients: a clinical comparison with hydroquinone. *Clin Ther*. 1998;20(5):960-970.
25. Mazurek K, Pierzchała E. Comparison of efficacy of products containing azelaic acid in melasma treatment. *J Cosmet Dermatol*. 2016;15(3):269-282.
26. Nielson C, Hsu S, Motaparthy K. 41 - Topical antibacterial agents. In: Wolverton SE, ed. *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy*. 4th ed. Elsevier; 2021:465-479.e9.
27. Murray MT, Nowicki J. 216 - Rosacea. In: Pizzorno JE, Murray MT, eds. *Textbook of Natural Medicine*. 5th ed. Churchill Livingstone; 2020:1777-80.e1.
28. Kirtschig G, Schaefer C. 2.17 - Dermatological medications and local therapeutics. In: Schaefer C, Peters P, Miller RK, eds. *Drugs During Pregnancy and Lactation*. 3rd ed. Academic Press; 2015:467-492.
29. Use depigmenting agents judiciously to lighten skin in patients with postinflammatory hyperpigmentation. *Drugs Ther Perspect*. 2011;27(11):10-13.
30. Callender VD, Surin-Lord SS, Davis EC, Maclin M. Postinflammatory hyperpigmentation. *Am J Clin Dermatol*. 2011;12(2):87-99.
31. Levy JL, Pons F, Agopian L, Besson R. A double-blind controlled study of a nonhydroquinone bleaching cream in the treatment of melasma. *J Cosmet Dermatol*. 2005;4(4):272-276.
32. Farris PK. Topical vitamin C: a useful agent for treating photoaging and other dermatologic conditions. *Dermatol Surg*. 2005;31(7 Pt 2):814-817. discussion 8.
33. Tajima S, Pinnell SR. Ascorbic acid preferentially enhances type I and III collagen gene transcription in human skin fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 1996;11(3):250-253.
34. Duarte TL, Cooke MS, Jones GD. Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radic Biol Med*. 2009;46(1):78-87.
35. Jaros A, Zasada M, Budzisz E, Dębowska R, Gębczyńska-Rzepka M, Rotsztein H. Evaluation of selected skin parameters following the application of 5% vitamin C concentrate. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(1):236-241.
36. Sauermaun 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.
37. Humbert PM, Messikh R, Try C. The action of vitamin C for treating wrinkles and protecting skin from photodamage. *Eur Dermatol*. 2010;5:36-40.

**How to cite this article:** Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy—Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21:6830-6839. doi: [10.1111/jocd.15359](https://doi.org/10.1111/jocd.15359)

### Publikacja 3:

*Markiewicz-Tomczyk, A.; Budzisz, E.; Erkiert-Polguj, A. A. Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments. J. Clin. Med. 2023, 12, 1869.*

Badania w ramach 3 części projektu przeprowadzono w grupie 20 ochotniczek w wieku 40–65 lat. Osiem zabiegów przeprowadzono co siedem dni metodą „split-face”. Przed zabiegiem skórę dokładnie oczyszczono preparatem PrePeel zawierającym 2% kwas salicylowy. Następnie na całą twarz nakładano 20% kwas azelainowy (pH 2,7) na 10 minut. Na prawą stronę twarzy, bez usuwania kwasu azelainowego, aplikowano na 15–20 min, w zależności od reakcji skóry, 40% witaminę C (pH 1,6), stabilizowaną nowym kompleksem kwasów ferulowego i laktobionowego. Po tym czasie kwas askorbinowy został zmyty. Na lewą stronę twarzy, po 10 min aplikacji kwasu azelainowego nakładano neutralizator w celu zmniejszenia wpływu kwasów na skórę i wyeliminowania delikatnego uczucia pieczenia. Następnie zastosowano oraz mezoterapię mikroigłową wykonaną za pomocą derma rollerem (0,5 mm) w połączeniu z aplikacją 10% witaminy C. Zabieg mezoterapii mikroigłowej trwał około 5–7 min. Oceniano następujące parametry: nawilżenie (Corneometr), poziom melaniny i rumienia (Mexametr) i elastyczność (Cutometr). Pierwszy pomiar skóry wykonano więc przed serią zabiegów (T0), następne po ośmiu sesjach (T1—8 tyg.) i ponownie po czterech tygodniach od zakończenia terapii (T2 — 12 tyg.). W niniejszym badaniu oceniano skuteczność dwóch typów terapii przeciwstarzeniowej u kobiet w średnim wieku, których skóra wykazywała oznaki starzenia, takie jak przebarwienia, rumień, teleangiektazje, zmarszczki i miejscowe uczucie suchości. Wszystkie substancje aktywne stosowane w terapii skojarzonej wykazywały działanie przeciwstarzeniowe. Korzystne działanie mezoterapii dla starzejącej się skóry zostało potwierdzone w innych badaniach, które wykazały znaczącą i trwałą poprawę elastyczności skóry. Wybór substancji aktywnej oraz sposobu jej aplikacji wywiera ogromny wpływ na skuteczność preparatów kosmetycznych. W III części badania własnego zastosowano połączenie dwóch składników aktywnych oraz aplikację z zastosowaniem promotora przenikania przeznaskórkowego. Terapia taka okazała się nie tylko skuteczna, ale i bezpieczna. W autorskiej ankiecie dotyczącej satysfakcji z efektów terapii, uczestniczki badania zauważyły poprawę ogólnego kolorytu skóry, zmniejszenie zaczerwienienia oraz rumienia, poprawę nawilżenia, spłycenie drobnych zmarszczek, poprawę elastyczności skóry oraz zmniejszenie wrażliwości skóry na czynniki zewnętrzne. Osiągnięte efekty wynikały z wielokierunkowego działania substancji w terapii skojarzonej. Zarówno stosowanie 20%

kwasu azelainowego z 40% witaminą C, jak i 20% kwasu azelainowego w połączeniu z mezoterapią mikroigłową z 10% witaminą C znacząco zmniejszyło pigmentację skóry i rumień, poprawiło nawilżenie skóry oraz jej elastyczność. Można jednak zauważyć, że zastosowanie mezoterapii mikroigłowej, jako środka bezpośredniego dostarczania substancji czynnej do skóry właściwej, wzmocniło skuteczność badanych substancji czynnych.



Article

# A Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments

Agata Markiewicz-Tomczyk <sup>1</sup>, Elzbieta Budzisz <sup>1</sup> and Anna Erkiert-Polguj <sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Cosmetic Raw Materials Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, 90-151 Lodz, Poland

<sup>2</sup> Department of Cosmetology and Aesthetic Dermatology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lodz, 90-151 Lodz, Poland

\* Correspondence: anna.erkiert-polguj@umed.lodz.pl

**Abstract:** Combined methods of applying chemical peels and antioxidants could be an option for skin rejuvenation with no down-time. The penetration of active substances can be enhanced by microneedle mesotherapy. The study was conducted on a group of 20 female volunteers, aged 40–65 years. All volunteers received a series of eight treatments performed every seven days. The whole face was first treated with azelaic acid; following this, the right side received a 40% solution of vitamin C and the left side 10% vitamin C with microneedling. Hydration and skin elasticity were markedly improved, with better results observed on the microneedling side. Melanin and erythema index decreased. No significant side effects were seen. The combination of active ingredients and delivery techniques have great potential to enhance the effectiveness of cosmetic preparations, probably by multidirectional ways of action. In our study, we demonstrated that both 20% azelaic acid + 40% vitamin C treatment and 20% azelaic acid + 10% vitamin C + microneedle mesotherapy efficiently improved the assessed parameters of aging skin. However, the use of microneedling mesotherapy as a means of direct delivery of active compound to the dermis enhanced the effectiveness of the studied preparation.

**Keywords:** antiaging therapy; azelaic acid; claim substantiation; hydration; microneedling; skin repair; vitamin C



**Citation:** Markiewicz-Tomczyk, A.; Budzisz, E.; Erkiert-Polguj, A. A Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 1869. <https://doi.org/10.3390/jcm12051869>

Academic Editor: Hei Sung Kim

Received: 11 January 2023

Revised: 21 February 2023

Accepted: 22 February 2023

Published: 27 February 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Skin aging is a complex, multifactorial process which starts to gradually appear in the third decade of life onwards and accelerates with age [1]. Such aging occurs earlier than other tissues, possibly as a result of exposure to environmental stressors and hazards. In general, the characteristic features of skin aging involve a loss of elasticity, appearance of wrinkles, and rough-textured appearance [2]. Such changes are associated with phenotypic alterations of cutaneous cells and structural and functional modifications occurring in extracellular matrix components, including elastin, collagens, and proteoglycans. These components are necessary for skin elasticity, tensile strength, and hydration [3]. Skin aging is mirrored by a reduction in collagen I content and the fragmentation of collagen fibrils as well as the accumulation of amorphous elastin material (elastosis) [4].

Aging-related alterations in skin appearance can negatively affect self-esteem and can result in substantial psychosocial burden [1]. Therefore, products that can help to delay this continuous process are of high importance in everyday life. A wide variety of cosmetic and medical antiaging products have been developed and introduced to the market; however, their efficiency is variable. Despite assurances from manufacturers, few topical antiaging components are able to effectively penetrate into the dermis; therefore, various resurfacing techniques, such as chemical peeling, mesotherapy, filler injections, and laser/radiofrequency tightening, are used to improve the delivery of active substances.

A number of antioxidant substances can be used to fight the signs of aging by neutralizing reactive oxygen species (ROS) that damage DNA, limiting collagen-degrading matrix metalloproteinase (MMP) production and inhibiting inflammation by the NF- $\kappa$ B pathway [2,5]. These can be nonenzymatic, such as vitamin C and E, or enzymatic, such as glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase, and coenzyme Q10. Vitamin C (ascorbic acid) is a well-known antioxidant which is capable of neutralizing and removing oxidants [6]. This property seems to be of special importance in the epidermis, where vitamin C is concentrated within the skin [7]. It also serves as a cofactor for the enzymes necessary for post-translational processing in the biosynthesis of collagen Types I and III [8,9] and stabilizes the tertiary structure of the collagen molecule [7,10–12]. Vitamin C has also been found to enhance the proliferation and migration of dermal fibroblasts and differentiation of rat epidermal keratinocytes in an organotypic culture model, thus significantly improving the ultrastructural organization of the stratum corneum and barrier function [10,13,14]. In addition, vitamin C derivatives appear to reduce the synthesis of melanin by disturbing the action of tyrosinase, the rate-limiting enzyme in melanogenesis [7].

Azelaic acid, a dicarboxylic acid, has multifaceted properties. It prevents discoloration by inhibiting the activity of tyrosinase and evens out the structure and color of the skin. It exerts its antiaging properties by inhibiting neutrophil activity, thus preventing free radical production, and scavenges ROS [15]. Due to its strong antibacterial and anti-inflammatory properties, it is successfully used in antiacne therapies, as well as in melasma and rosacea [16].

The present study uses microneedle mesotherapy. This is a technique that uses a dense arrangement of microinjections to enhance the penetration of active ingredients into deeper layers of the skin, i.e., it comes into contact with the dermal fibroblast cells. The procedure has been found to stimulate tissue regeneration [17].

The aim of this study was to assess the antiaging properties of methods of applying chemical peels used in combination.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Participants

The study was conducted during winter on a group of 20 female volunteers, aged 40–65 years. All patients were informed about the procedures and of any possible side effects, including itching, shedding, redness, burning, and excessive skin sensitivity to external factors. In case of any undesirable symptoms, patients were required to immediately inform the cosmetologist. During the study, and one month after its end, participants were recommended to use creams with SPF 50 in the mornings and during the day, asked not to use any other cosmetic treatments, not to change skin care habits, and not to consume coffee, hot drinks or spicy food at least two hours before the measurements. All patients indicated compliance with these recommendations.

Written informed consent to take part was obtained from each patient before the start of the procedure. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and the recommendations and guidelines of Cosmetics Europe. Moreover, the study was approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Lodz (no. RNN/281/16/KE 2017).

### 2.2. Procedures

Treatments were performed every seven days, for a total of eight treatments using the split face method. Before the treatment, make-up was removed from the whole face, and the skin was carefully cleaned with a prepeel product containing 2% salicylic acid. Following this, 20% azelaic acid (pH 2.7) was applied to the entire face for 10 min.

On the right side of the face, without removing the azelaic acid, 40% vitamin C (pH 1.6), stabilized with a novel complex of ferulic and lactobionic acids, was applied for 15–20 min, depending on the skin reaction. After this time, the ascorbic acid was washed off.

On the left side of the face, after the 10 min azelaic acid application, a neutralizer was used to diminish the effects of acids on skin and eradicate any unpleasant feeling of burning. This was followed by the use of 10% vitamin C and microneedle mesotherapy with a derma roller (0.5 mm) for 5–7 min (Figure 1). A DNS Bielenda 0.5 mm roller equipped with 192 stainless steel needles was used in this study.

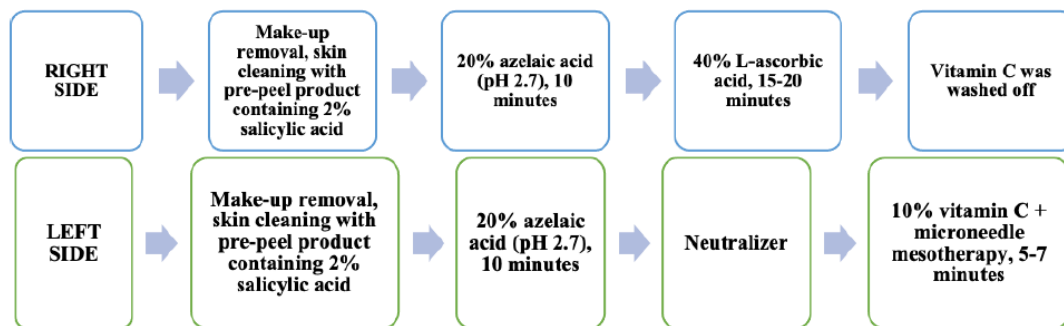


Figure 1. Summary of the method of study products application.

### 2.3. Measurement of Skin Parameters

The first skin measurement was performed before the series of treatments (T<sub>0</sub>), then after eight sessions of treatments (T<sub>1</sub>–8 weeks), and again four weeks after the end of the treatment (T<sub>2</sub>–12 weeks). Each measurement of the skin parameters was carried out in a special room with a constant temperature ( $T = 19\text{--}21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) and air humidity 30–50%; all participants were allowed to acclimatize for at least 20 min in a waiting room with the required temperature and air humidity. The skin was cleansed at least four hours before the examination. Measurements were taken on the cheeks and forehead, on both the right and left sides of the face, with the use of Multi Probe Adapter Systems (Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germany). The following parameters were assessed: hydration (Corneometr), skin tone (Mexametr), and elasticity (Cutometr). All measurements were performed three times in each location and the mean value was used for analysis. Skin tone was measured preferably in the area of discoloration or telangiectasia.

Skin properties were evaluated based on two parameters: R<sub>2</sub> (total elasticity of the skin) and R<sub>7</sub> (index of immediate contraction after complete deformation). To make an objective assessment of the effects during the treatments, photographs were also taken in five positions with the Fotomedicus (ELFO) system. After the series of treatments, the participants were asked to complete a questionnaire allowing a subjective assessment of facial skin. The questionnaire contained 15 questions concerning subjective opinion of participants on the observed changes in skin appearance, including the reduction of wrinkles visibility, improvement of skin hydration, firmness, elasticity, and tone, as well as decrease in skin redness, hypersensitivity, and feeling of tension. The answers were definitely yes, yes, do not know, or no.

### 2.4. Statistical Analysis

Continuous variables were tested for normality with the Shapiro–Wilk test. Parameters with a normal distribution were described using mean and standard deviation (mean  $\pm$  SD). Non-normally distributed variables were expressed as median and interquartile range: median (25%; 75%). Changes in normally distributed skin parameters over time were evaluated using one-way repeated measures ANOVA (with either Greenhouse–Geisser or Huynh–Feldt correction for sphericity when appropriate), followed by Bonferroni's post hoc test. Differences in the percentage changes of skin parameters compared to baseline values ( $([x(t_1) - x(t_0)]/x(t_0)) \times 100$ ) between different treatments and skin locations were

analysed with the Mann–Whitney test. *p* values of less than 0.05 were considered to be statistically significant.

### 3. Results

The study included 20 female volunteers aged 40–65 years. All participants had skin that showed signs of aging, such as hyperpigmentation, erythema, telangiectasia, wrinkles, and local feelings of dryness.

Both types of treatment yielded significant improvements in all assessed skin parameters. Both 20% azelaic acid + 40% vitamin C treatment and 20% azelaic acid + 10% vitamin C + microneedle mesotherapy efficiently improved skin tone (Table 1).

Table 1. Skin tone assessment.

Skin Tone N = 20	Site of Measurement	Time Point			<i>p</i>
		Measurement I Baseline (*)	Measurement II 8 Weeks (#)	Measurement III 12 Weeks	
Left side (A + 10%Vit C + M)	Forehead	144.0 ± 17.5	*** 116.6 ± 20.9	*** 108.8 ± 19.2 ###	<i>p</i> < 0.0001
	Cheek	133.4 ± 19.7	*** 103.8 ± 24.8	*** 96.5 ± 21.2 ###	<i>p</i> < 0.0001
Right side (A + 40% Vit C)	Forehead	143.5 ± 15.0	*** 117.7 ± 22.2	*** 109.8 ± 23.3 #	<i>p</i> < 0.0001
	Cheek	130.0 ± 14.3	*** 108.6 ± 19.1	*** 102.9 ± 18.0 ###	<i>p</i> < 0.0001

\* *p* < 0.05; \*\*\* *p* < 0.001 vs. measurement I; # *p* < 0.05; ### *p* < 0.001 vs. measurement II; A: 20% azelaic acid; vit C: vitamin C; M: microneedle mesotherapy; ANOVA and Bonferroni’s post hoc test were used for calculations.

A slightly greater decrease in pigmentation (I measurement vs. III measurement) was observed on the left side of the face (25.5% on forehead and 29.7% on cheek) in comparison to the right side (21.4% on forehead and 20.3% on cheek) (Figure 1). Both applied treatments were associated with significant improvement of erythema. The combination of 20% azelaic acid with 10% vitamin C and microneedle mesotherapy was also associated with slightly better, but insignificant, effects related to erythema reduction compared to 20% azelaic acid + 40% vitamin C (Table 2, Figures 2–4).

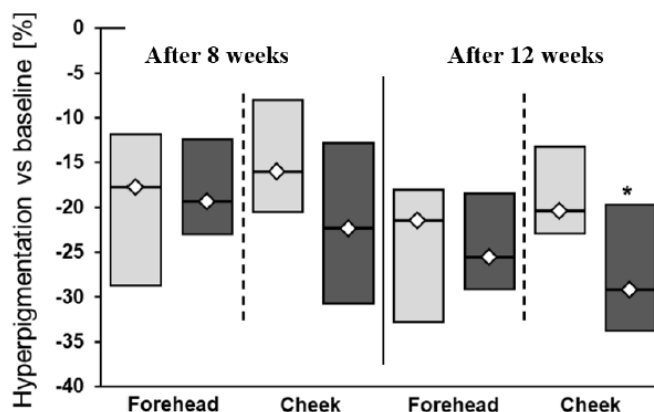


Figure 2. Percentage changes in hyperpigmentation after 8 and 12 weeks of treatment. \* *p* < 0.05; light grey: right side of the face; dark grey: left side of the face. Mann–Whitney test was used for calculations.





Figure 3. The reduction of skin hyperpigmentation.

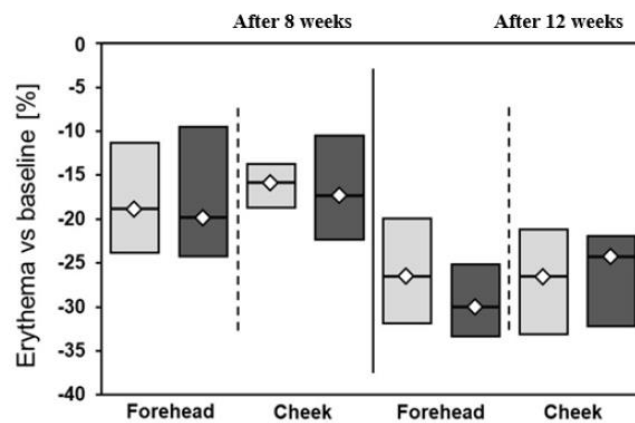


Figure 4. Percentage changes in erythema after 8 and 12 weeks of treatment. Light grey: right side of the face; dark grey: left side of the face; Mann–Whitney test was used for calculations.

Table 2. Erythema assessment results.

Erythema N = 20	Site of Measurement	Time point			p
		Measurement I (*)	Measurement II (#)	Measurement III	
Left side (A + 10%Vit C + M)	Forehead	336.0 ± 44.3	*** 270.5 ± 47.3	*** 234.0 ± 29.2 ###	p < 0.0001
	Cheek	354.5 ± 51.7	*** 294.6 ± 50.2	*** 255.3 ± 44.1 ###	p < 0.0001
Right side (A + 40% Vit C)	Forehead	331.2 ± 47.8	*** 268.4 ± 47.5	*** 243.0 ± 35.5 ###	p < 0.0001
	Cheek	343.6 ± 51.0	*** 285.7 ± 50.2	*** 250.7 ± 46.0 ###	p < 0.0001

\*p < 0.05; \*\*\*p < 0.001 vs. measurement I; #p < 0.05; ###p < 0.001 vs. measurement II; A: 20% azelaic acid; vit C.: vitamin C; M: microneedle mesotherapy; ANOVA and Bonferroni’s post hoc test were used for calculations.

The therapy markedly improved skin hydration of both sides of the face (Table 3); however, markedly better hydration was demonstrated on the left side compared to the right. Compared to baseline (i.e., measurement III vs. measurement I), these values were 47.5% (35.5; 53.8) vs. 33.3% (23.6; 45.3) on the forehead (p = 0.002), and 46.4% (38.9; 56.1) vs. 36.0% (22.1; 39.7) on the cheek (p = 0.001) (Figure 5).

Table 3. The result of hydration measurement.

Hydration N = 20	Site of Measurement	Time point			p
		Measurement I (*)	Measurement II (#)	Measurement III	
Left side (A + 10%Vit C + M)	Forehead	45.7 ± 6.6	*** 56.9 ± 9.1	*** 67.6 ± 7.3 ###	p < 0.0001
	Cheek	45.5 ± 4.8	*** 53.1 ± 6.3	*** 66.7 ± 5.1 ###	p < 0.0001
Right side (A + 40% Vit C)	Forehead	46.2 ± 6.5	*** 54.4 ± 7.6	*** 61.0 ± 7.4 ###	p < 0.0001
	Cheek	45.5 ± 4.7	*** 54.2 ± 6.4	*** 60.6 ± 7.1 ###	p < 0.0001

\* p < 0.05; \*\*\* p < 0.001 vs. measurement I; # p < 0.05; ### p < 0.001 vs. measurement II; A: 20% azelaic acid; vit C: vitamin C; M: microneedle mesotherapy; ANOVA and Bonferroni's post hoc test were used for calculations.

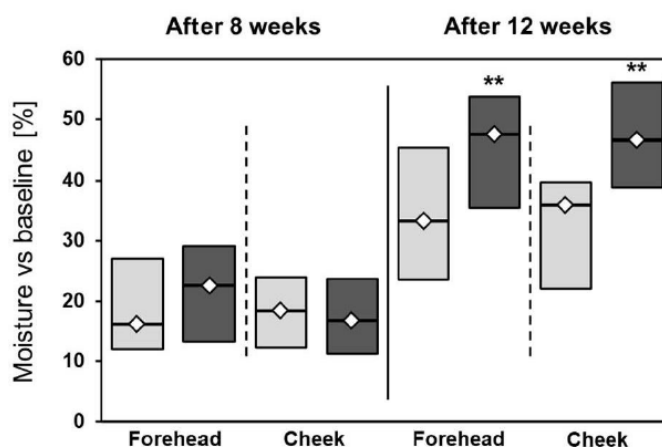


Figure 5. Percentage changes in hydration after 8 and 12 weeks of treatment. \*\* p < 0.01; light grey: right side of the face; dark grey: left side of the face; Mann-Whitney test was used for calculations.

The elasticity of skin was found to be significantly reduced at the end of the treatment in all participants (Table 4). R2 was found to increase by 79.0% on the forehead and 69.0% on the cheek after combined use of 20% azelaic acid + 10% vitamin C and mesotherapy. However, much-less-pronounced effects were observed on the right side (forehead: 51.2%, cheek: 46.9%). The differences between both sides and both used methods were statistically significant (Figure 6).

Table 4. The result of R2 measurement.

R2	Site of Measurement	Time Point			p
		Measurement I (*)	Measurement II (#)	Measurement III	
Left side (A + 10% Vit C + M)	Forehead	0.440 ± 0.035	*** 0.632 ± 0.112	*** 0.786 ± 0.095 ###	p < 0.0001
	Cheek	0.457 ± 0.031	*** 0.616 ± 0.066	*** 0.776 ± 0.044 ###	p < 0.0001
Right side (A + 40% Vit C)	Forehead	0.465 ± 0.057	*** 0.626 ± 0.089	*** 0.704 ± 0.052 ###	p < 0.0001
	Cheek	0.460 ± 0.048	*** 0.596 ± 0.064	*** 0.685 ± 0.059 ###	p < 0.0001

\* p < 0.05; \*\*\* p < 0.001 vs. measurement I; # p < 0.05; ### p < 0.001 vs. measurement II; A—20% azelaic acid; vit C: vitamin C; M: microneedle mesotherapy; ANOVA and Bonferroni's post hoc test were used for calculations.

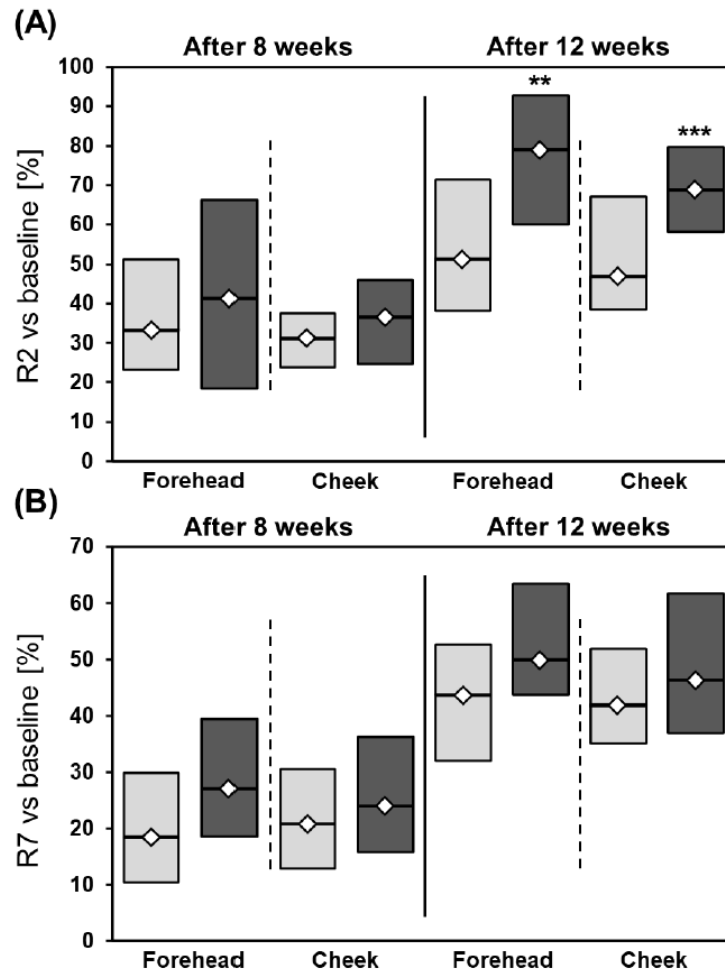


Figure 6. Percentage changes in R2 (A) and R7 (B) after 8 and 12 weeks of treatment.  $** p < 0.01$ ,  $*** p < 0.0001$ ; light grey: right side of the face; dark grey: left side of the face; Mann–Whitney test was used for calculations.

The R7 values increased by nearly 50% on the left side (forehead: 49.8%, cheek: 46.3%) and by more than 40% on the right side (forehead: 43.7%, cheek: 42.0%) in all participants (Table 5, Figure 6).

Table 5. The result of R7 measurement.

R2	Site of Measurement	Time Point			p
		Measurement I (*)	Measurement II (#)	Measurement III	
Left side (A + 10% Vit C + M)	Forehead	0.274 ± 0.039	*** 0.352 ± 0.045	*** 0.420 ± 0.045 ###	p < 0.0001
	Cheek	0.282 ± 0.036	*** 0.361 ± 0.046	*** 0.427 ± 0.039 ###	p < 0.0001
Right side (A + 40% Vit C)	Forehead	0.294 ± 0.041	*** 0.356 ± 0.056	*** 0.426 ± 0.051 ###	p < 0.0001
	Cheek	0.291 ± 0.032	*** 0.354 ± 0.044	*** 0.423 ± 0.036 ###	p < 0.0001

\* p < 0.05; \*\*\* p < 0.001 vs. measurement I; # p < 0.05; ### p < 0.001 vs. measurement II; A—20% azelaic acid; vit C: vitamin C; M: microneedle mesotherapy; ANOVA and Bonferroni’s post hoc test were used for calculations.

The overall improvement of skin condition is shown in Figure 7.



Figure 7. The overall improvement of skin condition on the left (A) and right (B) sides.

The questionnaire results indicated that a great majority of participants were satisfied with the observed effects. They reported improved skin hydration, greater skin firmness and elasticity, and reduced redness and wrinkles. In this subjective assessment, all the evaluated skin features were improved to a slightly larger extent after the use of 20% azelaic acid + 10% vitamin C + microneedle mesotherapy compared to the other treatment (Figure 8).

Side effects of peels and mesotherapy may include redness, itching, burning, hypersensitivity to external factors, hyperpigmentation; however, in this study, no significant side effects were observed. It must be mentioned that the safety of the procedure was very important to us.

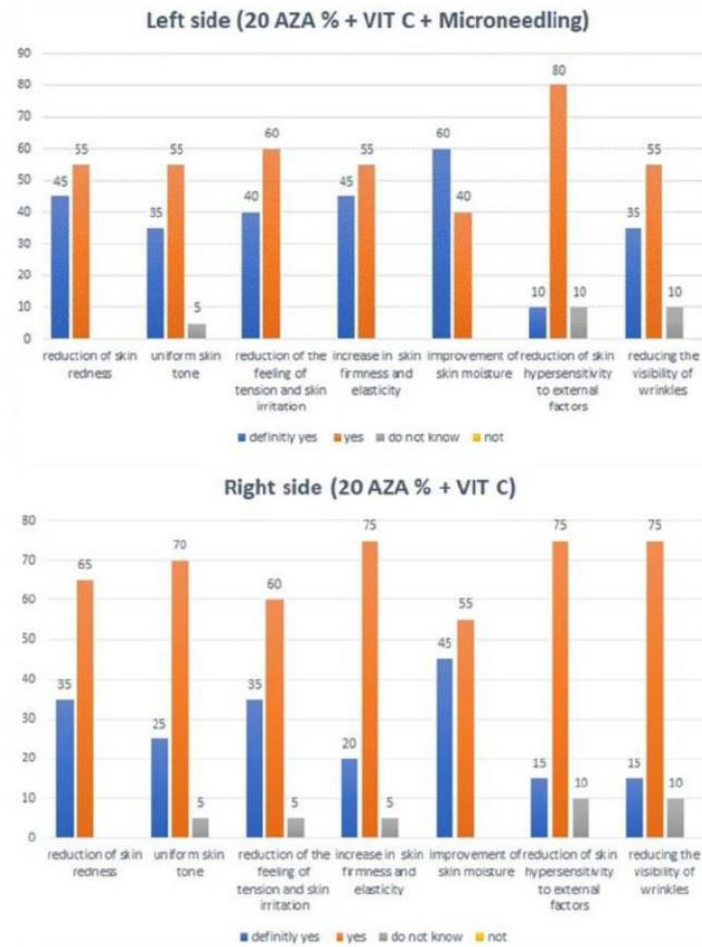


Figure 8. The subjective opinion of the participants regarding the improvement of skin appearance after the completion of treatment.

#### 4. Discussion

The process of skin aging is associated with its gradual deterioration. This has been attributed to both intrinsic and extrinsic skin aging processes. Intrinsic aging is a natural progressive physiological process leading to the formation of fine wrinkles, skin thinning and dryness, as well as gradual dermal atrophy. In turn, extrinsic aging results from the impact of external environment factors, including exposure to ultraviolet (UV) light, infrared radiation, environmental pollution, tobacco smoking, malnutrition, and psychological stress; this leads to the loss of skin elasticity, greater laxity, and the formation of coarse wrinkles [1,2]. Extrinsic factors also appear to deplete antioxidant levels in skin and increase reactive oxygen species (ROS) levels [5].

A recent theory suggests that aging could be associated with impaired redox-stress response capacity (RRC) [18]; aging is associated with a gradual worsening of the endogenous antioxidant system and thus the reduced capacity of elderly skin [19]. Therefore, the application of exogenous antioxidants should boost antioxidant capacity and diminish UV-induced skin photodamage and photoaging.

It is estimated that premature skin aging affects up to 83% of adults under the age of 55 [1,20]. Since having a young and attractive appearance may exert a positive influence on social behavior and mood, there is a growing interest in therapies that help to alleviate or reduce the effects of aging [2]. Antioxidant-based therapy, using vitamin C, vitamin E, or polyphenols, may improve the resistance to ROS-mediated oxidative damage, decrease inflammation, and slow skin aging [21].

The present study assessed the effectiveness of two types of antiaging therapy in middle-aged women whose skin showed signs of aging such as hyperpigmentation, erythema, telangiectasia, wrinkles, and local feeling of dryness. The findings indicate significant improvements in all assessed skin parameters after both types of treatment: both 20% azelaic acid + 40% vitamin C treatment and 20% azelaic acid + 10% vitamin C + microneedle mesotherapy efficiently improved skin hyperpigmentation as well as erythema. Other studies have also found azelaic acid to have a beneficial impact on hyperpigmentation by inhibiting tyrosinase and exerting an antiproliferative effect on the melanogenesis pathway [22,23]. Mazurek et al. indicated that 5–20% azelaic acid combined with phytic acid, ferulic acid, 4N-butyl resorcinol, or mandelic acid is most effective in lightening hyperpigmentation; also, vitamin C application was found to reduce the degree of pigmentation [24]. A clinical trial studying the effectiveness of a preparation containing 25% l-ascorbic acid with a chemical penetration enhancer demonstrated marked reduction in pigmentation severity in patients with melasma [25].

Vitamin C has been found to diminish the level of skin erythema by affecting blood microcirculation. Additionally, the addition of ferulic acid not only increases the stability of vitamin C preparation, but also improves its skin-lightening properties, since ferulic acid hampers tyrosinase activity [26,27]. Kameyama et al. observed that topical application of ascorbic acid derivative (magnesium-ascorbyl-2-phosphate, MAP) effectively lightened the skin of patients with hyperpigmentation disorders, such as melasma or solar lentiginos [28].

In this study, both types of treatment markedly improved skin hydration; however, a much more pronounced effect was observed on the side of the face receiving the microneedle mesotherapy. The improvement in hydration could be associated with the use of lactobionic acid (LA) since it was found that LA peels could enhance skin hydration and limit transepidermal water loss [29]. Additionally, it has been suggested that mesotherapy may help intensify the level of skin hydration [30]. Another study found the use of azelaic acid to diminish the effects of aging, particularly dryness, via the regulation of sebum secretion [16].

Skin elasticity, assessed based on R2 and R7, was also found to be significantly ameliorated by both therapies. However, significantly better effects were observed on the left side of the face, i.e., the side treated with mesotherapy. On this side, the R2 value improved by 79.0% on the forehead and 69.0% on the cheek. R2 indicates the ability of the skin to return to its original position after deformation and reflects the function of the elastic fibers of the skin [31]. Additionally, parameter R7, showing the ability of the skin to recover after deformation, was markedly improved in comparison with baseline; however, again, the percentage change was higher after the use of 20% azelaic acid + vitamin C + microneedle mesotherapy. Thus, it seems that the use of mesotherapy enhances the antiaging effects of the used antioxidants, possibly by enabling their delivery to deeper skin layers.

The beneficial effects of mesotherapy on aging skin have been confirmed in other studies. Baspeyras et al. demonstrated that HA-based mesotherapy significantly and sustainably improved skin elasticity. The author notes that this minimally invasive procedure supports the creation of an optimal physiological environment for fibroblasts and promotes their ability to produce the extracellular matrix. Such conditions are conducive to enhanced collagen and elastin synthesis [32,33]. Fibroblasts produce substances that are vital for maintaining a youthful skin condition [32]. The direct delivery of active substances using microinjections has been found to stimulate elastic and collagen fibers production [30], as the healing process promotes skin regeneration and repair. It seems that the great improvement in skin elasticity achieved by the present treatments, especially the one incorporating

microneedling mesotherapy, is related not only to effects of vitamin C but also to the method of application.

Aged and photoaged skin is characterized by flattened epidermal–dermal junctions and the disappearance of papillary projections and larger corneocytes [34]. Previous studies suggest that topical application of vitamin C may partly restore the appropriate structure of the epidermal–dermal junction and papillary dermis. Sauermann et al. [35] report that the application of 3% vitamin C on the forearm of women improved the density of dermal papillae, probably via angiogenesis, suggesting that this compound can partially correct aging-related regressive structural changes. A double-blind, randomized trial revealed that topical application of 5% vitamin C on photoaged skin was associated with marked intensification of the density of skin microrelief as well as a reduction of the deep furrows [36]. Such treatment was not only effective but also well-tolerated.

Other studies have reported a decrease in the appearance of facial fine lines/wrinkles [6,37]. The application of ascorbic acid markedly diminished oxidative stress in the skin, improved epidermal–dermal microstructure, and decreased fine lines and wrinkles in aged skin [37]. Another study found that vitamin C treatment resulted in lowered photoaging scores, increased hydration, and increased Grenz zone collagen levels; in addition, higher levels of type I collagen mRNA were revealed by staining [38]. Additionally, chemical peelings which remove damaged facial skin in a controlled manner improve the smoothness and texture of skin [39]. Additionally, azelaic acid is known to inhibit the production of free radicals by neutrophils, which suggests that it may have a beneficial role in antiaging therapies.

It seems that all the ingredients used in the combined therapy herein have antiaging effects. In addition, the objective efficiency of the applied treatment was also confirmed by the results of questionnaire, which clearly showed that a great majority of participants was satisfied with the observed effects. They observed improved skin hydration, firmness, and elasticity, as well as the reduction of redness and wrinkles. It is worth underlying that the observed effects were long lasting, since the measured values continued to improve even after four weeks from the end of the treatment. This finding may suggest that the applied treatment triggered long-lasting skin remodeling.

Our study has some limitations. Firstly, the study included a small number of participants. Moreover, all participants were females and they belonged to the white race (Caucasian race). Therefore, the obtained results cannot be extrapolated to patients of other races.

## 5. Conclusions

The choice of active ingredient and delivery technique has great potential to enhance the effectiveness of cosmetic preparations. The method used in this study, based on the combination of two active ingredients and the use of transdermal application, turned out to be both safe and effective. We achieved promising effects, and these could be associated with the multidirectional effects of combination therapy on aging skin. Our findings indicate that both 20% azelaic acid + 40% vitamin C treatment and 20% azelaic acid + 10% vitamin C + microneedle mesotherapy efficiently improved the assessed parameters of aging skin. However, the use of microneedling mesotherapy, as a means of direct delivery of active compound to the dermis, enhanced the effectiveness of the studied preparation.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.E.-P. and A.M.-T.; methodology, A.M.-T.; software, A.M.-T.; validation, formal analysis, E.B.; investigation, A.M.-T. and A.E.-P.; resources, A.M.-T.; data curation, A.E.-P.; writing—original draft preparation, A.M.-T.; writing—review and editing, A.E.-P. and E.B.; visualization, A.M.-T.; supervision, E.B.; project administration, A.M.-T.; funding acquisition, E.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics Committee of the Medical University of Lodz (no. RNN/281/16/KE 2017).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. Written informed consent was obtained from the patient(s) to publish this paper.

**Data Availability Statement:** Data are available on request.

**Acknowledgments:** Financial support from the Medical University of Lodz (grant No 503/3-066-02/503-31-001 to E. Budzisz) is gratefully acknowledged.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Wadstein, J.; Alvarez, I.S.; López, L.B. Managing Skin Ageing as a Modifiable Disorder—The Clinical Application of Norella® Dual Approach Comprising a Nano-Encapsulated Retinoid, Retilex-A® and a Skin Proteoglycan Replacement Therapy, Vercilex®. *Cosmetics* **2022**, *9*, 31. [\[CrossRef\]](#)
- Zhang, S.; Duan, E. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplant.* **2018**, *27*, 729–738. [\[CrossRef\]](#)
- Huertas, A.C.M.; Schmelzer, C.E.; Hoehenwarter, W.; Heyroth, F.; Heinz, A. Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie* **2016**, *128*, 163–173. [\[CrossRef\]](#)
- Aldag, C.; Nogueira Teixeira, D.; Leventhal, P.S. Skin rejuvenation using cosmetic products containing growth factors, cytokines, and matrikines: A review of the literature. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **2016**, *9*, 411–419. [\[CrossRef\]](#)
- Kammeyer, A.; Luiten, R. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res. Rev.* **2015**, *21*, 16–29. [\[CrossRef\]](#)
- Bissett, D.L.; Johnson, M.B. Cosmetic Anti-aging Ingredients. In *Textbook of Aging Skin*; Farage, M.A., Miller, K.W., Maibach, H.I., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2010; pp. 1069–1078.
- Pullar, J.M.; Carr, A.C.; Vissers, M.C.M. The Roles of Vitamin C in Skin Health. *Nutrients* **2017**, *9*, 866. [\[CrossRef\]](#)
- Geesin, J.C.; Darr, D.; Kaufman, R.; Murad, S.; Pinnell, S.R. Ascorbic acid specifically increases type I and type III procollagen messenger RNA levels in human skin fibroblasts. *J. Investig. Dermatol.* **1988**, *90*, 420–424. [\[CrossRef\]](#)
- Tajima, S.; Pinnell, S.R. Ascorbic acid preferentially enhances type I and III collagen gene transcription in human skin fibroblasts. *J. Dermatol. Sci.* **1996**, *11*, 250–253. [\[CrossRef\]](#)
- 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. [\[CrossRef\]](#)
- Kishimoto, Y.; Saito, N.; Kurita, K.; Shimokado, K.; Maruyama, N.; Ishigami, A. Ascorbic acid enhances the expression of type I and type 4 collagen and SVCT2 in cultured human skin fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2013**, *430*, 579–584. [\[CrossRef\]](#)
- Hinek, A.; Kim, H.J.; Wang, Y.; Wang, A.; Mitts, T.F. Sodium L-ascorbate enhances elastic fibers deposition by fibroblasts from normal and pathologic human skin. *J. Dermatol. Sci.* **2014**, *75*, 173–182. [\[CrossRef\]](#)
- Marionnet, C.; Vioux-Chagnoleau, C.; Pierrard, C.; Sok, J.; Asselineau, D.; Bernerd, F. Morphogenesis of dermal–epidermal junction in a model of reconstructed skin: Beneficial effects of vitamin C. *Exp. Dermatol.* **2006**, *15*, 625–633. [\[CrossRef\]](#)
- Pasonen-Seppänen, S.; Suhonen, M.T.; Kirjavainen, M.; Suihko, E.; Urtti, A.; Miettinen, M.; Hyttinen, 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. [\[CrossRef\]](#)
- Gibson, J. Rationale for the development of new topical treatments for acne vulgaris. *Cutis* **1996**, *57*, 13–19.
- Wójcik, A.; Kubiak, M.; Rotsztein, H. Influence of azelaic and mandelic acid peels on sebum secretion in ageing women. *Postepy Dermatol. Alergol.* **2013**, *30*, 140–145. [\[CrossRef\]](#)
- Prikhnenko, S. Polycomponent mesotherapy formulations for the treatment of skin aging and improvement of skin quality. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **2015**, *8*, 151–157. [\[CrossRef\]](#)
- Meng, J.; Lv, Z.; Qiao, X.; Li, X.; Li, Y.; Zhang, Y.; Chen, C. The decay of redox-stress response capacity is a substantive characteristic of aging: Revising the redox theory of aging. *Redox Biol.* **2017**, *11*, 365–374. [\[CrossRef\]](#)
- Pourzand, C.; Albierti-Borges, A.; Raczek, N.N. Shedding a New Light on Skin Aging, Iron- and Redox-Homeostasis and Emerging Natural Antioxidants. *Antioxidants* **2022**, *11*, 471. [\[CrossRef\]](#)
- Green, A.; Hughes, M.; McBride, P.; Fournier, A. Factors associated with premature skin aging (photoaging) before the age of 55: A population-based study. *Dermatology* **2011**, *222*, 74–80. [\[CrossRef\]](#)
- Masaki, H. Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. *J. Dermatol. Sci.* **2010**, *58*, 85–90. [\[CrossRef\]](#)
- Bergman, D.; Luke, J. Azelaic acid. *J. Dermatol. Nurses' Assoc.* **2017**, *9*, 157–160. [\[CrossRef\]](#)
- Nautiyal, A.; Wairkar, S. Management of hyperpigmentation: Current treatments and emerging therapies. *Pigment Cell Melanoma Res.* **2021**, *34*, 1000–1014. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mazurek, K.; Pierzchała, E. Comparison of efficacy of products containing azelaic acid in melasma treatment. *J. Cosmet. Dermatol.* **2016**, *15*, 269–282. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Hwang, S.W.; Oh, D.J.; Lee, D.; Kim, J.W.; Park, S.W. Clinical efficacy of 25% L-ascorbic acid (C'ensil) in the treatment of melasma. *J. Cutan. Med. Surg.* **2009**, *13*, 74–81. [\[CrossRef\]](#)
- Oresajo, C.; Stephens, T.; Hino, P.D.; Law, R.M.; Yatskayer, M.; Foltis, P.; Pillai, S.; Pinnell, S.R. 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*, 290–297. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)



27. Murray, J.C.; Burch, J.A.; Streilein, R.D.; Iannacchione, M.A.; Hall, R.P.; Pinnell, S.R. A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2008**, *59*, 418–425. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Algier-Zielińska, B.; Mucha, P.; Rotsztein, H. Effects of lactobionic acid peel, aluminum oxide crystal microdermabrasion, and both procedures on skin hydration, elasticity, and transepidermal water loss. *J. Cosmet. Dermatol.* **2019**, *18*, 1463–1474. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Matthews-Brzozowska, T.; Łacka, M.; Bernacka, M.; Lichaj, M. Mesotherapy—A method of facial skin rejuvenation from an interdisciplinary perspective on improving facial aesthetics. *J. Med. Sci.* **2017**, *86*, 308–312. [[CrossRef](#)]
31. Dobrev, H. In vivo study of skin mechanical properties in Raynaud’s phenomenon. *Skin Res. Technol.* **2007**, *13*, 91–94. [[CrossRef](#)]
32. Jung, G.S.; Eom, J.R.; Jeon, H.J.; Chu, S.G.; Oh, E.; Lee, J.W. Facial Rejuvenating Effects of Mesotherapy Using a New Polycomponent Formulation. *Med. Lasers* **2018**, *7*, 69–73. [[CrossRef](#)]
33. Tedeschi, A.; Lacarrubba, F.; Micali, G. Mesotherapy with an Intradermal Hyaluronic Acid Formulation for Skin Rejuvenation: An Inpatient, Placebo-Controlled, Long-Term Trial Using High-Frequency Ultrasound. *Aesthetic Plast. Surg.* **2015**, *39*, 129–133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Humbert, P.L.L.; Saas, P.; Viennet, C. Vitamin C, Aged Skin, Skin Health. In *Vitamin C—An Update on Current Uses and Functions*; IntechOpen: London, UK, 2018. [[CrossRef](#)]
35. Sauermaun, 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*, 13. [[CrossRef](#)]
36. Humbert, P.G.; Haftek, M.; Creidi, P.; Lapière, C.; Nusgens, B.; Richard, A.; Schmitt, D.; Rougier, A.; Zahouani, H. Topical ascorbic acid on photoaged skin. Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: Double-blind study vs. placebo. *Exp. Dermatol.* **2003**, *12*, 237–244. [[CrossRef](#)]
37. Raschke, T.; Koop, U.; Düsing, H.J.; Filbry, A.; Sauermaun, K.; Jaspers, S.; Wenck, H.; Wittern, K.P. Topical activity of ascorbic acid: From in vitro optimization to in vivo efficacy. *Skin Pharmacol. Physiol.* **2004**, *17*, 200–206. [[CrossRef](#)]
38. Fitzpatrick, R.E.; Rostan, E.F. Double-blind, half-face study comparing topical vitamin C and vehicle for rejuvenation of photodamage. *Dermatol. Surg.* **2002**, *28*, 231–236. [[CrossRef](#)]
39. Chilicka, K.; Rogowska, A.M.; Szygula, R.; Dzieńdziora-Urbińska, I.; Taradaj, J. A comparison of the effectiveness of azelaic and pyruvic acid peels in the treatment of female adult acne: A randomized controlled trial. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 12612. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## VI. DYSKUSJA

Starzenie się stanowi naturalny i nieunikniony proces obejmujący spowolnienie mechanizmów regeneracyjnych, obniżenie biologicznej aktywności komórek, pogorszenie zależnych od czynników genetycznych możliwości adaptacyjnych organizmu, zmniejszenie odporności i osłabienie odpowiedzi na stres środowiskowy [123]. Na starzenie się skóry wpływają zarówno procesy zależne od uwarunkowań wrodzonych jak i te związane z wpływem środowiska zewnętrznego. Starzejąca się skóra charakteryzuje się obecnością przebarwień, zmian naczyniowych i zmarszczek, a także utratą elastyczności i suchością. Starzenie się skóry jest procesem, w którym następuje stopniowe pogarszanie się parametrów skóry, takich jak elastyczność, sprężystość, nawodnienie. Powstają również przebarwienia na skórze. Za zmiany te odpowiedzialne są zarówno czynniki wewnętrzne (m.in. stres oksydacyjny związany z nadmiernym powstawaniem reaktywnych form tlenu, zmiany hormonalne, w tym niedobór lub brak estrogenów oraz uwarunkowania genetyczne) oraz czynniki zewnętrzne, takie jak promieniowanie UV (powodujące fotostarzenie), palenie tytoniu, niewłaściwy tryb życia, nieodpowiednia dieta. Wewnątrzpochodne procesy fizjologiczne prowadzą z czasem do powstawania drobnych zmarszczek, skóra staje się cieńsza i sucha. Chronologiczne starzenie się skóry objawia się jej suchością, wiotkością i drobnymi zmarszczkami oraz rozwojem łagodnych zmian, takich jak rogowacenia łojotokowe i naczyniaki starcze, jednakże nie wiąże się z nasiloną/obniżoną pigmentacją lub głębokimi zmarszczkami charakterystycznymi dla fotostarzenia [50, 124]. W chronologicznie starzejącej się skórze wiązki włókien kolagenowych są luźne, krótkie, cienkie i zdeorganizowane w porównaniu z młodą skórą chronioną przed słońcem [125]. Naskórek staje się cieńszy. Obserwuje się także zmniejszenie liczby melanocytów, komórek tłuszcznych i komórek Langerhansa [126].

Z kolei, pod wpływem czynników zewnętrznych następuje utrata elastyczności skóry w wyniku czego staje się wiotka i pojawiają się zmarszczki [127, 128]. Starzenie się skóry może także wiązać się z obniżoną zdolnością do odpowiedzi na stres oksydacyjny, przez co jest ona bardziej podatna na fotostarzenie [129]. Kliniczne objawy fotostarzenia obejmują zmarszczki, występowanie plamistej pigmentacji (hipo- lub hiperpigmentacji), szorstkiej skóry, utratę kolorytu skóry, suchość, ziemistość skóry, głębokie bruzdy, teleangiektazje, wiotkość [42, 130]. Typ skóry ma istotny wpływ na wygląd fotostarzejącej się skóry. Osoby z typem skóry I i II według Fitzpatricka wykazują objawy zanikowe z mniejszą liczbą zmarszczek i przednowotworowymi zmianami dysplastycznymi, takimi jak rogowacenie

słoneczne [131]. Dla porównania, skóra typu III i IV wykazuje cechy hipertroficzne z grubymi, wyraźnymi zmarszczkami, skórzastą skórą, plamami soczewicowatymi i ogólnym „brązowym” wyglądem. Skóra może mieć również żółtawy odcień, wynikający z elastozy w procesie fotostarzenia [17]. Dodatkowo, zmiany w unaczynieniu skóry w następstwie promieniowania UV mogą również prowadzić do rozszerzeń, które klinicznie objawiają się jako teleangiektazje. Kliniczne objawy fotostarzenia różnią się w zależności od wieku, płci, a zwłaszcza fototypu skóry i pochodzenia etnicznego [132]. Zmarszczki pojawiają się o około 10-20 lat wcześniej u osób o jasnej karnacji niż w populacji azjatyckiej, natomiast osoby o ciemnej karnacji należące do azjatyckich i afrykańskich grup etnicznych występuje większe prawdopodobieństwo wystąpienia plam soczewicowatych oraz przebarwień [132]. Stosowanie preparatów zawierających przeciwutleniacze może zwiększać zdolności antyoksydacyjne skóry i redukować fotouszkodzenia wywołane promieniowaniem UV. Ze względu na fakt, iż młody i atrakcyjny wygląd wydaje się pozytywnie wpływać na relacje społeczne i dobre samopoczucie, rośnie zainteresowanie terapiami pomagającymi złagodzić efekty starzenia [128]. Zabiegi oparte na aplikacji przeciwutleniaczy mogą wspomóc skórę w walce z wolnymi rodnikami, zmniejszać stan zapalny i spowolnić procesy starzenia się skóry [133].

Kwas azelainowy stanowi jeden z bardzo popularnych składników kosmetyków przeciwstarzeniowych, przeznaczonych do cery wrażliwej, skłonnej do zaczerwienień i podrażnień [74, 134]. Liczne badania wykazały działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, komedolityczne i antybakteryjne kwasu azelainowego. Kwas ten stosowany jest w leczeniu przebarwień skóry [135, 136]. Badanie własne potwierdziło skuteczność kwasu azelainowego w leczeniu przebarwień skóry, które są jednym z objawów starzenia się skóry. Zostało ono przeprowadzone wśród ochotniczek, których skóra wykazywała oznaki starzenia, w tym przebarwienia, rumień, teleangiektazje, zmarszczki i przesuszenie. Zastosowanie 20% i 30% kwasu azelainowego poprawiało także nawilżenie, elastyczność skóry, co wydaje się wynikać z hamowania produkcji wolnych rodników przez neutrofile. Zastosowanie 30% kwasu azelainowego spowodowało wyraźniejsze zwiększenie nawilżenia, poprawę elastyczności w porównaniu z 20% kwasem, jednakże różnica ta nie była istotna statystycznie. Przeciwstarzeniowe właściwości 20%-30% kwasu azelainowego wynikają m.in. z jego działania przeciwzapalnego (ograniczenie aktywności neutrofile) i antyoksydacyjnego (hamowanie aktywności oksydazy NADPH, blokowanie późniejszej produkcji ROS oraz usuwanie wolnych rodników), a także właściwości przeciwkomedogennymi (hamowanie dojrzewania keratynocytów) [71, 137-139]. Dodatkowo kwas azelainowy działa

bakteriostatycznie na *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus aureus*, co związane jest z blokowaniem oksydoredukcyjnych enzymów mitochondrialnych oraz hamowaniem syntezy DNA i produkcji białek komórkowych bakterii [140]. Wójcik i wsp. [141] zaobserwowali, że zarówno zastosowanie 20% peelingu zawierającego kwas azelainowy jak i peelingu z 40% kwasem migdałowym niwelowało objawy starzenia skóry, a zwłaszcza suchość, poprzez regulację wydzielania sebum w miejscach, gdzie jest było ono znacznie zmniejszone.

Badanie własne będące przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej składało się z trzech powiązanych ze sobą części. W I części badania własnego po zastosowaniu 20% i 30% kwasu azelainowego po obu stronach twarzy zaobserwowano również zmniejszenie zaczerwienienia skóry. Zastosowanie 30% kwasu azelainowego spowodowało większą redukcję poziomu melaniny i rumienia w porównaniu z 20% kwasem. Korzystne działanie kwasu azelainowego zostało potwierdzone z subiektywnej ocenie uczestniczek niniejszego badania. Właściwości rozjaśniające kwasu azelainowego wynikają z uczestnictwa w kompetencyjnej inhibicji tyrozynazy będącej kluczowym enzymem w procesie melanogenezy [142]. Skuteczność kwasu azelainowego w zmniejszaniu przebarwień została potwierdzona w wielu badaniach i z tego powodu kwas jest szeroko stosowany w kosmetyce i dermatologii [9, 143, 144]. W badaniu przeprowadzonym przez Faghihi i wsp. [145] stosowanie 20% kwasu azelainowego w połączeniu z 10% rezorcyną i 6% kwasem fitowym okazało się skuteczne i bezpieczne w leczeniu melasmy. Duży potencjał w leczeniu przebarwień i melasmy wykazano także w przypadku zastosowania nanoemulsji kwasu azelainowego z kwasem hialuronowym [146]. Warstwa hydrolipidowa naskórka hamuje przenikanie substancji aktywnych zawartych w kosmetykach, co może wiązać się z uzyskiwaniem niezadowalających efektów terapeutycznych. Jednakże formuła nanoemulsji ułatwiała pokonanie bariery skóry i dotarcie do jej głębszych warstw, co zwiększało tym samym skuteczność kwasu azelainowego jako środka depigmentującego. Kwas azelainowy jest również często stosowany w leczeniu trądziku [147]. Z badań wynika, iż kwas azelainowy należy stosować ostrożnie u pacjentów z nadwrażliwością skóry ze względu na możliwe działania niepożądane, takie jak zaczerwienienie, podrażnienie i pieczenie [134]. Jednakże w badaniu własnym, zabiegi były bardzo dobrze tolerowane i nie powodowały długotrwałych skutków ubocznych.

Kolejną substancją czynną stosowaną często w preparatach przeciwstarzeniowych jest kwas askorbinowy. Kwas ten niezbędny jest do prawidłowej syntezy kolagenu, gdyż pełni rolę kofaktora w procesie hydroksylacji. Witamina C stabilizuje trzeciorzędową strukturę cząsteczki

kolagenu, a także promuje ekspresję genów związanych z syntezą kolagenu i jego produkcję. Nasila również proliferację i migrację fibroblastów skóry [94, 148, 149]. Bierze ona także udział w procesach depigmentacji w skórze oraz hamowaniu melanogenezy, przez co sprawia, że przebarwienia stają się mniej widoczne. Witamina C uszczelnia również naczynia krwionośne i zapobiega powstawaniu teleangiektazji [148]. Z tego powodu preparaty zawierające witaminę C znalazły zastosowanie w terapii cery naczynkowej. Kwas askorbinowy (witamina C) posiada właściwości antyoksydacyjne. Nie tylko usuwa ona wolne rodniki, ale też blokuje uwalnianie anionów ponadtlenkowych przez makrofagi zapobiegając w ten sposób uszkodzeniom skóry. Poprzez zmniejszanie produkcji immunosupresyjnej interleukiny-10, witamina C wzmacnia mechanizmy obronne skóry [150]. Właściwości te sprawiają, że kwas askorbinowy chroni skórę przed promieniowaniem UV i fotostarzeniem. Jednakże, kwas askorbinowy jest związkiem niestabilnym, ulegającym szybkiemu utlenianiu w roztworach wodnych, przez to jego preparaty powinny mieć niskie pH oraz zawierać inne związki (np. kwas azelainowy lub ferulowy), które mają działanie stabilizujące.

W ostatnich latach, również kwas fitowy stał się bardzo popularnym środkiem przeciwstarzeniowym. Kwas fitowy wykazuje właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne. Kwas fitowy działa złuszcząco i rozjaśniająco [151]. Jako czynnik chelatujący zapobiega on przedostawaniu się żelaza i miedzi do komórek i tym samym utrudnia produkcję melaniny [145, 152]. Stosowanie preparatów zawierających kwas fitowy nie tylko poprawia koloryt skóry, ale i działa na nią kojąco.

We współczesnej kosmetologii, peelings chemiczne są często stosowane w zabiegach przeprowadzanych na skórze starzejącej się i zniszczonej słońcem. Ponadto, coraz popularniejsze staje się aplikacja kilku substancji czynnych warstwa po warstwie podczas jednego zabiegu, co docelowo ma nasilić efekt terapeutyczny. Zastosowanie pojedynczego związku aktywnego zwykle koryguje jeden lub dwa oznaki starzenia. Na przykład preparaty zawierające kwas azelainowy zwykle stosowane są w leczeniu melasmy, natomiast kwas fitowy wykorzystywany jest ze względu na swoje działanie przeciwzapalne. Jednakże połączenie dwóch lub trzech komponentów może wywierać lepsze, wielokierunkowe działanie przeciwstarzeniowe.

W badaniu własnym zastosowanie kwasu azelainowego z kwasem fitowym lub kwasu azelainowego z kwasem fitowym i witaminą C wiązało się ze znacznym zmniejszeniem rumienia i przebarwień zarówno na czole, jak i na policzkach. Obserwowany efekt był

nieznacznie lepszy w przypadku zastosowania trzech substancji czynnych – hiperpigmentacja została zredukowana o ponad 23%, podczas gdy rumień o 28,8% na czole i 23,0% na policzku. Zastosowana w niniejszym badaniu własnym terapia poprawiła również nawilżenie skóry. Witamina C stymuluje syntezę ceramidów, przyczynia się do powstawania lipidów barierowych warstwy rogowej naskórka przez co pomaga w utrzymaniu prawidłowego nawilżenia skóry. W badaniu własnym, w wyniku terapii kwasem azelainowym z kwasem fitowym lub kwasem azelainowym z kwasem fitowym i witaminą C zaobserwowano również znaczną poprawę sprężystości i elastyczności skóry ocenianych na podstawie parametrów R2 i R7. Wydaje się, że ten efekt ten wynikał głównie z korzystnego działania witaminy C na kolagen i fibroblasty. Nie tylko oceniane parametry wskazywały na poprawę stanu skóry. Również uczestniczki badania wyraziły satysfakcję z uzyskanych efektów odmładzających. Większość kobiet biorących udział w naszym badaniu zaobserwowało poprawę nawilżenia skóry poprawę elastyczności, ujednoczenie kolorytu i redukcję zaczerwienień i zmarszczek. Obserwacje te były zgodne także z ocenami ekspertów wystawionymi na podstawie oceny zdjęć wykonanych za pomocą Systemu Fotomedicus. W literaturze są dostępne badania potwierdzające dobroczynne działanie kwasu azelainowego, kwasu fitowego i witaminy C na stan skóry i oznaki starzenia. Jednakże, nasze badania pokazują korzyści jakie wiążą się z zastosowaniem terapii skojarzonej, co stanowi nowatorską metodę aplikacji. Terapie oparte na połączeniu różnych substancji aktywnych wydają się być bardziej skuteczne ze względu na ich synergiczne działanie i z tego powodu są coraz częściej stosowane. Oprócz większych korzyści, które wynikają ze stosowania metod skojarzonych, istotne jest bezpieczeństwo zabiegowe, minimalne ryzyko wystąpienia powikłań oraz jak najkrótszy czas rekonwalescencji po zabiegowej.

W badaniach własnych oceniono także skuteczność dwóch rodzajów terapii przeciwstarzeniowej: 20% kwas azelainowy + 40% witamina C, jak i 20% kwas azelainowy + 10% witamina C + mezoterapią mikroigłową. Obie terapie skutecznie zredukowały przebarwienia skóry oraz rumień. Zarówno kwas askorbinowy, jak i kwas azelainowy były odpowiedzialne za zaobserwowany efekt, gdyż obie substancje hamują aktywność tyrozynazy [9, 153]. Stwierdzono, że witamina C zmniejsza nasilenie rumienia poprzez wpływ na mikrokrążenie krwi. Również w badaniu Raschke i wsp. [154] po aplikacji kwasu askorbinowego zaobserwowano istotne obniżenie stresu oksydacyjnego w starzejącej się skórze, poprawę mikrostruktury naskórka i skóry właściwej oraz zmniejszenie drobnych zmarszczek. W podwójnie zaślepionym badaniu stosowanie witaminy C wiązało

się z poprawą nawilżenia i zwiększeniem poziomu kolagenu w strefie Grenza oraz wyższym poziomem mRNA kolagenu typu I [155].

Starzejąca się skóra charakteryzuje się spłaszczonymi połączeniami naskórkowo-skórnymi, a także zanikiem wypustek brodawkowatych i korneocytów [156]. Miejscowa aplikacja witaminy C może częściowo przywrócić odpowiednią strukturę. Wyniki badania przeprowadzonego przez Sauermanna i wsp. [157] wykazały, że stosowanie 3% witaminy C na przedramię kobiet poprawiło gęstość skórnych wypustek brodawkowatych, co sugeruje, że związek ten może częściowo korygować zmiany strukturalne zachodzące w starzejącej się skórze. Kolejne badanie wykazało poprawę mikrorzeźby skóry oraz zmniejszenie głębokości zmarszczek po zastosowaniu preparatu zawierającego 5% kwas askorbinowy [158]. Wyniki jednego z badań wskazują, że również kwas azelainowy może zmniejszać efekty starzenia, zwłaszcza suchość skóry, poprzez regulację wydzielania sebum [141]. W badaniu własnym łączne stosowanie kwasu azelainowego i askorbinowego poprawiało znacznie elastyczność skóry, ocenianą na podstawie R2 i R7, jednakże znacznie lepsze efekty zaobserwowano po stronie twarzy poddanej mezoterapii. Zdolność skóry do powrotu do pierwotnego położenia po odkształceniu odzwierciedlająca funkcję włókien sprężystych skóry oraz jej zdolność do regeneracji po deformacji, uległa znacznej poprawie w porównaniu z wartością wyjściową, przy czym poprawa ta była bardziej znacząca po stronie twarzy, po której użyto mezoterapią mikroigłowej. Połączenie witaminy C i mezoterapią mikroigłową umożliwiającą wnikanie substancji aktywnej do wnętrza skóry, przyczyniło się do zmniejszenia widoczności zmarszczek i ujednolicenia kolorytu skóry już po czterech zabiegach. Wykorzystanie mezoterapii potęguje przeciwstarzeniowe działanie zastosowanych antyoksydantów, prawdopodobnie poprzez umożliwienie ich dostarczenia do głębszych warstw skóry. Nasze badanie potwierdza korzystne działanie mezoterapii mikroigłowej w połączeniu z substancjami aktywnymi w niwelowaniu oznak starzenia się skóry. W badaniu własnym wykazano, iż zabieg był bardzo dobrze tolerowany przez uczestniczki badania, nie wywołał reakcji nadmiernego podrażnienia skóry twarzy. Mezoterapia wspomaga tworzenie optymalnego środowiska fizjologicznego dla fibroblastów i promuje ich zdolność do wytwarzania macierzy pozakomórkowej. Fibroblasty wytwarzają substancje niezbędne do zachowania młodzieńczego wyglądu skóry [159]. Mezoterapia stymuluje produkcję włókien elastycznych i kolagenowych, przez to proces gojenia mikrouszkodzeń skóry prowadzi do jej autoregeneracji [160].

W przedstawionej serii badań własnych wszystkie składniki zastosowane w terapii skojarzonej wywierały działanie przeciwstarzeniowe. Wydaje się, że peelingi zawierające 20% i 30%

kwas azelainowy przede wszystkim zmniejszają poziom melaniny i rumień. Natomiast połączenie kwasu azelainowego z kwasem fitowym i witaminą C pozwoliło nie tylko na redukcję przebarwień i rumienia, ale także w sposób znaczący poprawiło sprężystość i elastyczność skóry oraz przyczyniło się do spłycenia zmarszczek. Zastosowanie kilku substancji czynnych nasiliło efekt przeciwstarzeniowy, nie wywołując jednocześnie istotnych podrażnień lub reakcji alergicznych. W badaniu własnym zastosowano nowatorską metodę nakładania warstwy na warstwę bez uprzedniego zmywania wcześniejszego preparatu. Takie podejście pozwoliło na zintensyfikowanie uzyskanych efektów. Działania zastosowanych substancji czynnych uzupełniały się przynosząc bardzo dobry efekt przeciwstarzeniowy. Jednakże najbardziej zauważalne efekty przeciwstarzeniowe odnotowano w badaniu własnym, w którym zastosowano mezoterapię mikroigłową, aby umożliwić dostarczenie substancji czynnych (kwasu azelainowego i witaminy C) bezpośrednio do skóry właściwej. Poza poprawą obiektywnych parametrów wskazujących na poprawę skuteczności zastosowanej terapii również większość uczestniczek była wysoce zadowolona z zaobserwowanych efektów. Odnotowana poprawa kondycji skóry była długotrwała i ulegała dalszej poprawie w ciągu czterech tygodni od zakończenia kuracji, co może sugerować, że zastosowana terapia spowodowała przebudowę skóry. Zastosowane preparaty i metody były bezpieczne i dobrze tolerowane, co jest niezwykle ważne. Zdecydowana większość pacjentów (około 90%) nie zgłaszała żadnych działań niepożądanych. Bardzo rzadko, pacjentki odczuwały dyskomfort w postaci pieczenia i delikatnego łuszczenia się skóry. W badaniu, w którym zastosowano kwas azelainowy, u jednej z uczestniczek pojawiły się zmiany trądzikowe po obu stronach twarzy, które jednak ustąpiły po kilku dniach.

Po wykonanej serii badań każda z uczestniczek badania była poproszona o wypełnienie autorskiej ankiety satysfakcji z przeprowadzonej serii zabiegów. Wszystkie pacjentki były zadowolone z uzyskanych efektów terapii przeciwstarzeniowej. Kobiety zaobserwowały poprawę ogólnego kolorytu skóry, zmniejszenie zaczerwienienia oraz rumienia, poprawę nawilżenia, wygładzenie drobnych zmarszczek, poprawę elastyczności skóry oraz zmniejszenie wrażliwości skóry na czynniki zewnętrzne, co jest szczególnie istotne w przypadku osób ze skłonnością do występowania zmian naczyniowych.



## VII. WNIOSKI

1. Peelingi zawierające 20% i 30% kwas azelainowy zmniejszają przede wszystkim poziom melaniny i rumienia, ponadto preparaty są bardzo dobrze tolerowane przez wrażliwą skórę, nie powodując nadmiernych podrażnień. Nie wykazano istotnej statystycznie przewagi 30% kwasu azelainowego nad 20 %, dlatego do dalszych badań użyto kwasu o niższym stężeniu, ograniczając w ten sposób możliwość wystąpienia działań niepożądanych.
2. Miejscowe stosowanie (warstwa po warstwie) preparatów zawierających kwas azelainowy, kwas fitowy i witaminę C poprawiło elastyczność skóry, zmniejszyło widoczność przebarwień i rumienia oraz poprawiało koloryt skóry. Nowatorska technika warstwowej aplikacji dwóch lub trzech preparatów jeden po drugim nie powodowała podrażnień ani reakcji alergicznych. Ponadto zastosowanie 2 lub 3 odpowiednio dobranych substancji czynnych przynosi lepszy efekt przeciwstarzeniowy ze względu na ich uzupełniające się działania.
3. Zastosowanie łączonej techniki zabiegowej składającej się z mezoterapii mikroigłowej w połączeniu z kwasem azelainowym i witaminą C w znacznym stopniu poprawiło badane parametry skóry, nie powodując długotrwałej reakcji podrażnienia skóry. Dzięki tej metodzie uzyskano najlepszy efekt przeciwstarzeniowy znacząco poprawiając elastyczność skóry, nawilżenie oraz zmniejszając rumień i przebarwienia.
4. Stosowanie metod skojarzonych zapewnia lepsze i długotrwałe efekty, zachowując bezpieczeństwo zabiegowe i minimalizując ryzyko wystąpienia niepożądanych reakcji.
5. Autorska ankieta potwierdziła uzyskane w ocenie aparaturowej wyniki. Wszystkie uczestniczki badania zauważyły znaczną poprawę stanu skóry po serii zabiegów z użyciem peelingów chemicznych. Kobiety zaobserwowały poprawę ogólnego kolorytu skóry, zmniejszenie zaczerwienienia, poprawę nawilżenia, wygładzenie drobnych zmarszczek, poprawę elastyczności skóry oraz zmniejszenie wrażliwości skóry na czynniki zewnętrzne

## VIII. STRESZCZENIE

Kwas azelainowy ze względu na swoje wielokierunkowe działanie coraz częściej jest stosowany jako składnik kosmetyków i leków. Wykazuje on działanie: antyoksydacyjne, keratolityczne, przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwłojotokowe oraz rozjaśniające. Wytwarzany jest przez drożdżaki bytujące na skórze i we włosach rodzaju *Malassezia furfur*, ponadto kwas azelainowy jest naturalnym składnikiem występującym w zbożach. Kwas fitowy stanowi naturalny składnik pochodzenia roślinnego. Wykazuje działanie nawilżające, złuszczone, antyoksydacyjne oraz rozjaśniające. Kwas askorbinowy jest silnym antyoksydantem występującym głównie w owocach i warzywach. Często wykorzystywany w kosmetykach, wpływa na syntezę kolagenu, zmniejsza produkcję metaloproteinaz odpowiedzialnych za degradację kolagenu, wpływa na właściwy skład bariery lipidowej naskórka, przeciwdziała hiperpigmentacji, wzmacnia ściany naczyń krwionośnych ograniczając ich przepuszczalność. Niestety kwas L-askorbinowy jest niestabilny, łatwo utlenia się pod wpływem światła, dlatego opracowuje się specjalne formuły, które gwarantują wysoką stabilność i trwałość produktów. Współczesna kosmetologia nieustannie poszukuje metod, które pozwolą substancjom aktywnym penetrować w głąb skóry. Mezoterapia mikroigłowa stanowi promotor przenikania przez naskórkowy, ułatwiając wprowadzenie substancji aktywnej. Kontrolowane mikronakłucia indukują stan zapalny w skórze właściwej, pobudzając fibroblasty do syntezy kolagenu, a w efekcie staje się ona bardziej napięta. Ponadto zmniejsza się ekspresja metaloproteinaz co przyczynia się do zmniejszenia przebarwień. Niewątpliwie cechą wspólną ww. substancji jest ich korzystny wpływ na redukcję objawów starzenia się skóry.

Cele pracy:

1. Ocena porównawcza wpływu 20% i 30 % kwasu azelainowego na wybrane parametry skóry: nawilżenie, intensywność zaczerwienienia, poziom melaniny oraz elastyczność skóry.
2. Ocena porównawcza wpływu terapii skojarzonej kwasu azelainowego i kwasu fitowego oraz kwasu azelainowego, kwasu fitowego i witaminy C na wybrane parametry skóry: nawilżenie, intensywność zaczerwienienia, poziom melaniny oraz elastyczność skóry.
3. Ocena porównawcza wpływu terapii skojarzonej kwasu azelainowego i witaminy C oraz mezoterapii mikroigłowej z zastosowaniem tych samych składników

aktywnych na wybrane parametry skóry: nawilżenie, intensywność zaczerwienienia, poziom melaniny oraz elastyczność skóry.

4. Subiektywna ocena efektów zabiegowych po wykonanej serii zabiegów oraz wystąpienia możliwych reakcji niepożądanych na podstawie autorskiej ankiety satysfakcji z terapii.

W badaniu wzięło udział 60 kobiet podzielonych na 3 grupy badane, w przedziale wiekowym 35-60 lat, posiadającym II i III fototyp skóry wg skali Fitzpatricka. Wszyscy uczestnicy badania wykazywali cechy starzejącej się skóry takie jak: przebarwienia, nadmiernie rozszerzone naczynia, rumień, suchość, zmarszczki. Badanie obejmowało serię 8 zabiegów. W I grupie 20 kobiet miało wykonany zabieg co 10-14 dni aplikując 20% i 30% kwas azelainowy metodą „split-face”. W II grupie 20 kobiet miało wykonany zabieg co 7 dni, aplikując również metodą „split-face” 20% kwas azelainowy w połączeniu z 30% kwasem fitowym oraz 20% kwas azelainowy, 30% kwas fitowy i 40 % witaminę C. W III grupie 20 kobiet miało wykonane zabiegi w tym samym odstępie czasu, metodą „split-face” aplikując 20% i 40% witaminę C oraz 20% kwas azelainowy, 10% witaminę C i mezoterapię mikroigłową.

Oceny skuteczności zabiegów dokonano za pomocą sond Mexameter, Corneometer, Cutometer urządzenia MPA - The Multi Probe Adapter Systems (Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germany). Przed przystąpieniem do badania oraz po zakończeniu serii zabiegów, wykonano zdjęcia systemem fotograficznym Fotomedicus (Elfo®).

Z przeprowadzonych badań wynikają następujące wnioski:

1. Peelingi zawierające 20% i 30% kwas azelainowy zmniejszają przede wszystkim poziom melaniny i rumienia, ponadto preparaty są bardzo dobrze tolerowane przez wrażliwą skórę, nie powodując nadmiernych podrażnień. Nie wykazano istotnej statystycznie przewagi 30% kwasu azelainowego nad 20 %, dlatego do dalszych badań użyto kwasu o niższym stężeniu, ograniczając w ten sposób możliwość wystąpienia działań niepożądanych.
2. Miejscowe stosowanie (warstwa po warstwie) preparatów zawierających kwas azelainowy, kwas fitowy i witaminę C poprawiło elastyczność skóry, zmniejszyło widoczność przebarwień i rumienia oraz poprawiało nawilżenie. Nowatorska technika warstwowej aplikacji dwóch lub trzech preparatów jeden po drugim nie powodowała podrażnień i reakcji alergicznych. Ponadto zastosowanie 2 lub 3

odpowiednio dobranych substancji czynnych przynosi lepszy efekt przeciwstarzeniowy ze względu na ich uzupełniające się działania.

3. Zastosowanie łączonej techniki zabiegowej składającej się z mezoterapii mikroigłowej w połączeniu z kwasem azelainowym i witaminą C w znacznym stopniu poprawiło badane parametry skóry, nie powodując długotrwałej reakcji podrażnienia skóry. Dzięki tej metodzie uzyskano najlepszy efekt przeciwstarzeniowy znacząco poprawiając elastyczność skóry, nawilżenie oraz zmniejszając rumień i przebarwienia.
4. Stosowanie metod skojarzonych zapewnia lepsze i długotrwałe efekty, zachowując bezpieczeństwo zabiegowe i minimalizując ryzyko wystąpienia niepożądanych reakcji.
5. Autorska ankieta potwierdziła uzyskane w ocenie aparaturowej wyniki. Wszystkie uczestniczki badania zauważyły znaczną poprawę stanu skóry po serii zabiegów z użyciem peelingów chemicznych oraz mezoterapii mikroigłowej. Kobiety zaobserwowały poprawę ogólnego kolorytu skóry, zmniejszenie zaczerwienienia, poprawę nawilżenia, wygładzenie drobnych zmarszczek, poprawę elastyczności skóry oraz zmniejszenie wrażliwości skóry na czynniki zewnętrzne

## IX. STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM

Azelaic acid, due to its multidirectional action, is frequently used as an active compound of cosmetics and medicines. This acid has antioxidant, keratolytic, antibacterial, anti-inflammatory, anti-seborrheic and brightening properties. It is produced by yeasts (*Malassezia furfur* and *Pityrosporum ovale*) that live on the skin and in the hair. Moreover, azelaic acid is a natural ingredient found in cereals. Phytic acid is a natural ingredient of plant origin. It shows moisturizing, exfoliating, antioxidant and brightening properties. Ascorbic acid is a powerful antioxidant found mainly in fruits and vegetables. It is commonly used in cosmetics since it affects the synthesis of collagen, reduces the production of metalloproteinases which are responsible for collagen degradation, modulates the proper composition of the lipid barrier of the epidermis, prevents hyperpigmentation, strengthens the walls of blood vessels by limiting their permeability. Unfortunately, L-ascorbic acid is unstable, and it easily oxidises under the influence of light. Therefore, special formulas have been developed to guarantee high stability and durability of products. Modern cosmetology is constantly searching for methods that would allow active substances to penetrate deep into the skin. Microneedle mesotherapy enables transepidermal penetration and facilitate the introduction of the active substance into deeper layers of skin. Controlled microinjuries induce inflammation in the dermis and stimulate fibroblasts to synthesize collagen which results in the skin becoming more tense. Moreover, this technique helps to reduce the expression of metalloproteinases which contributes to the diminishing of discoloration. Undoubtedly, a common feature of all the above-mentioned substances and method is their beneficial effect involving the reduction of skin aging symptoms.

Goals of study:

1. Comparative assessment of the effect of 20% and 30% azelaic acid on selected skin parameters, including: hydration, redness intensity, melanin level and skin elasticity.
2. Comparative assessment of the effect of combined therapy of azelaic acid and phytic acid as well as azelaic acid, phytic acid and vitamin C on selected skin parameters: hydration, redness intensity, melanin level and skin elasticity.
3. Comparative assessment of the effect of combined therapy of azelaic acid and vitamin C and microneedle mesotherapy combined with the same active ingredients on selected skin parameters: hydration, redness intensity, melanin level and skin elasticity.

#### 4. Subjective assessment of treatment effects after a series of treatments and the occurrence of possible adverse reactions

60 volunteers aged 35-60, with II and III skin phototype according to the Fitzpatrick scale participated in this study. They were divided into 3 study groups. All participants of the study showed signs of aging skin, such as: discoloration, excessively dilated vessels, erythema, dryness, wrinkles. The study included a series of 8 treatments. In the first group, 20 women underwent a treatment with 20% and 30% azelaic acid and „split-face” method every 10-14 days. In the second group, 20 women were treated every 7 days with 20% azelaic acid in combination with 30% phytic acid or 20% azelaic acid combined with 30% phytic acid and 40% vitamin C. „split-face” method was used. In the third group, 20 women underwent treatments (at the same time interval) which included the application of 20% and 40% vitamin C on one side of the face and 20% azelaic acid, 10% vitamin C and microneedle mesotherapy on the other side.

The effectiveness of the treatments was assessed using the Mexameter, Corneometer and Cutometer probes of the MPA device - The Multi Probe Adapter Systems (Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germany). Before the examination and after the series of treatments, photos of participants' faces were taken with the use of Fotomedicus (Elfo®) photographic system.

Based on the obtained results, the following conclusions were drawn:

1. Peels containing 20% and 30% azelaic acid primarily reduce the level of melanin and erythema. Moreover, preparations containing this acid are very well tolerated by sensitive skin and they do not cause excessive irritation. There was no statistically significant difference between the effects of 20% and 30% azelaic acid, therefore, acid with a lower concentration was used for further studies to limit the possibility of side effects.
2. Topical application (layer by layer) of preparations containing azelaic acid, phytic acid and vitamin C improved skin elasticity, reduced the visibility of discoloration and erythema, and improved hydration. The innovative technique of multilayer application of two or three preparations did not cause irritation or allergic reactions. Moreover, the use of 2 or 3 properly selected active substances provides a better anti-aging effect due to complementarity of their actions.

3. The combined treatment consisting of microneedle mesotherapy, azelaic acid and vitamin C significantly improved the assessed skin parameters, without causing a long-term skin irritation. This method provided the most visible anti-aging effect since it significantly improved skin elasticity, hydration and reduced erythema and discoloration.

4. The combination of active substances and application techniques (microneedle mesotherapy) ensures better long-lasting effects. At the same time, such therapies are safe and do not cause adverse reactions.

5. The author's questionnaire confirmed the results obtained in the apparatus assessment. All participants in the study noticed a significant improvement in the condition of the skin after a series of treatments using chemical peels and microneedle mesotherapy. Women observed an improvement in overall skin tone, a reduction in redness, an improvement in hydration, a smoothing of fine wrinkles, an improvement in skin elasticity and a decrease in skin sensitivity to external factors

## X. SPIS TABEL I RYCIN

### Spis tabel

<b>Tabela 1.</b> Charakterystyka grup badanych .....	25
--	----

### Spis rycin

<b>Ryc. 1.</b> Struktura kwasu azelainowego .....	15
<b>Ryc. 2.</b> Struktura chemiczna kwasu fitynowego .....	17
<b>Ryc. 3</b> Struktura kwasu askorbinowego .....	18
<b>Ryc. 4.</b> Zabiegi stosowane w ramach I części badania .....	26
<b>Ryc. 5</b> Zabiegi stosowane w ramach II części badania .....	27
<b>Ryc. 6.</b> Zabiegi stosowane w ramach III części badania .....	28
<b>Ryc. 7.</b> Zasada pomiaru za pomocą urządzenia Cutometer MPA 580 ( <a href="https://www.enviroderm.co.uk/products/cutometer-dual-mpa-580">https://www.enviroderm.co.uk/products/cutometer-dual-mpa-580</a> ).....	30
<b>Ryc. 8.</b> Charakterystyka krzywej pomiarowej w urządzeniu Cutometer [122]. .....	31
<b>Ryc. 9.</b> Mechanizm działania aparatu Mexameter ( <a href="https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Mexameter.p">https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Mexameter.p</a> .....	32



## XI. PIŚMIENNICTWO

1. Resende, Diana I. S. P., Marta S. Ferreira, José M. S. Lobo, Emília Sousa, and Isabel F. Almeida. "Skin Depigmenting Agents in Anti-Aging Cosmetics: A Medicinal Perspective on Emerging Ingredients." *Applied Sciences* 12, no. 2 (2022): 775.
2. Manosroi, A., R. Chutoprapat, M. Abe, W. Manosroi, and J. Manosroi. "Anti-Aging Efficacy of Topical Formulations Containing Niosomes Entrapped with Rice Bran Bioactive Compounds." *Pharm Biol* 50, no. 2 (2012): 208-24.
3. Garbe, C., and U. Leiter. "Melanoma Epidemiology and Trends." *Clin Dermatol* 27, no. 1 (2009): 3-9.
4. Petruk, Ganna, Rita Del Giudice, Maria Manuela Rigano, and Daria Maria Monti. "Antioxidants from Plants Protect against Skin Photoaging." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018 (2018): 1454936.
5. Lephart, Edwin D. "Skin Aging and Oxidative Stress: Equol's Anti-Aging Effects Via Biochemical and Molecular Mechanisms." *Ageing research reviews* 31 (2016): 36-54.
6. Lephart, ED. "Equol's Anti-Aging Effects Protect against Environmental Assaults by Increasing Skin Antioxidant Defense and Ecm Proteins While Decreasing Oxidative Stress and Inflammation." *Cosmetics* 5, no. 1 (2018): 16.
7. Garinis, G. A., J. Jans, and G. T. van der Horst. "Photolyases: Capturing the Light to Battle Skin Cancer." *Future Oncol* 2, no. 2 (2006): 191-9.
8. Antoniou, Christina, Maria G. Kosmadaki, Alexandros J. Stratigos, and Andreas D. Katsambas. "Photoaging." *American Journal of Clinical Dermatology* 11, no. 2 (2010): 95-102.
9. Mazurek, K., and E. Pierzchała. "Comparison of Efficacy of Products Containing Azelaic Acid in Melasma Treatment." *J Cosmet Dermatol* 15, no. 3 (2016): 269-82.
10. Cash, T.F.; Windstead, B.A.; Janda, L.H. "The Great American Shape Up." *Psychol Today* 20 (1986): 30-7.
11. Veale, David, Ann Boocock, Kevin Gournay, and Windy Dryden. "Body Dysmorphic Disorder: A Survey of Fifty Cases." *The British Journal of Psychiatry* 169 (1996): 196-201.
12. Analysts, Global Industry. "Anti Aging Products Market Report. ." [http://www.strategyr.com/Anti\\_Aging\\_Products\\_Market\\_Report.asp](http://www.strategyr.com/Anti_Aging_Products_Market_Report.asp) .
13. Blackburn, E. H. "Switching and Signaling at the Telomere." *Cell* 106, no. 6 (2001): 661-73.
14. Gilchrest, B. A. "Skin Aging 2003: Recent Advances and Current Concepts." *Cutis* 72, no. 3 Suppl (2003): 5-10; discussion 10.
15. Kosmadaki, MG, and BA Gilchrest. "The Role of Telomeres in Skin Aging/Photoaging." *Micron* 35, no. 3 (2004): 155-59.
16. Salminen, Antero, Kai Kaarniranta, and Anu Kauppinen. "Photoaging: Uv Radiation-Induced Inflammation and Immunosuppression Accelerate the Aging Process in the Skin." *Inflammation Research* 71, no. 7 (2022): 817-31.
17. Fisher, G. J., S. Kang, J. Varani, Z. Bata-Csorgo, Y. Wan, S. Datta, and J. J. Voorhees. "Mechanisms of Photoaging and Chronological Skin Aging." *Arch Dermatol* 138, no. 11 (2002): 1462-70.
18. Lee, D. H., J. H. Oh, and J. H. Chung. "Glycosaminoglycan and Proteoglycan in Skin Aging." *J Dermatol Sci* 83, no. 3 (2016): 174-81.
19. Mora Huertas, A. C., C. E. Schmelzer, W. Hoehenwarter, F. Heyroth, and A. Heinz. "Molecular-Level Insights into Aging Processes of Skin Elastin." *Biochimie* 128-129 (2016): 163-73.
20. Wollina, U., R. Wetzker, M. B. Abdel-Naser, and I. L. Kruglikov. "Role of Adipose Tissue in Facial Aging." *Clin Interv Aging* 12 (2017): 2069-76.
21. Coppé, J. P., C. K. Patil, F. Rodier, Y. Sun, D. P. Muñoz, J. Goldstein, P. S. Nelson, P. Y. Desprez, and J. Campisi. "Senescence-Associated Secretory Phenotypes Reveal Cell-Nonautonomous Functions of Oncogenic Ras and the P53 Tumor Suppressor." *PLoS Biol* 6, no. 12 (2008): 2853-68.
22. Awad, F., E. Assrawi, C. Louvrier, C. Jumeau, I. Giurgea, S. Amselem, and S. A. Karabina. "Photoaging and Skin Cancer: Is the Inflammasome the Missing Link?" *Mech Ageing Dev* 172 (2018): 131-37.

23. Ruhland, M. K., A. J. Loza, A. H. Capietto, X. Luo, B. L. Knolhoff, K. C. Flanagan, B. A. Belt, E. Alspach, K. Leahy, J. Luo, A. Schaffer, J. R. Edwards, G. Longmore, R. Faccio, D. G. DeNardo, and S. A. Stewart. "Stromal Senescence Establishes an Immunosuppressive Microenvironment That Drives Tumorigenesis." *Nat Commun* 7 (2016): 11762.
24. Waaijer, M. E., W. E. Parish, B. H. Strongitharm, D. van Heemst, P. E. Slagboom, A. J. de Craen, J. M. Sedivy, R. G. Westendorp, D. A. Gunn, and A. B. Maier. "The Number of P16ink4a Positive Cells in Human Skin Reflects Biological Age." *Aging Cell* 11, no. 4 (2012): 722-5.
25. Campisi, J. "Aging, Cellular Senescence, and Cancer." *Annu Rev Physiol* 75 (2013): 685-705.
26. Demaria, M., P. Y. Desprez, J. Campisi, and M. C. Velarde. "Cell Autonomous and Non-Autonomous Effects of Senescent Cells in the Skin." *J Invest Dermatol* 135, no. 7 (2015): 1722-26.
27. Quan, T., Z. Qin, P. Robichaud, J. J. Voorhees, and G. J. Fisher. "Ccn1 Contributes to Skin Connective Tissue Aging by Inducing Age-Associated Secretory Phenotype in Human Skin Dermal Fibroblasts." *J Cell Commun Signal* 5, no. 3 (2011): 201-7.
28. Yoon, J. E., Y. Kim, S. Kwon, M. Kim, Y. H. Kim, J. H. Kim, T. J. Park, and H. Y. Kang. "Senescent Fibroblasts Drive Ageing Pigmentation: a Potential Therapeutic Target for Senile Lentigo." *Theranostics* 8, no. 17 (2018): 4620-32.
29. Golomb, L., A. Sagiv, I. S. Pateras, A. Maly, V. Krizhanovsky, V. G. Gorgoulis, M. Oren, and A. Ben-Yehuda. "Age-Associated Inflammation Connects Ras-Induced Senescence to Stem Cell Dysfunction and Epidermal Malignancy." *Cell Death Differ* 22, no. 11 (2015): 1764-74.
30. Moreau, J. F., T. Pradeu, A. Grignolio, C. Nardini, F. Castiglione, P. Tieri, M. Capri, S. Salvioli, J. L. Taupin, P. Garagnani, and C. Franceschi. "The Emerging Role of Ecm Crosslinking in T Cell Mobility as a Hallmark of Immunosenescence in Humans." *Ageing Res Rev* 35 (2017): 322-35.
31. Ryan, T. "The Ageing of the Blood Supply and the Lymphatic Drainage of the Skin." *Micron* 35, no. 3 (2004): 161-71.
32. Sanada, F., Y. Taniyama, J. Muratsu, R. Otsu, H. Shimizu, H. Rakugi, and R. Morishita. "Source of Chronic Inflammation in Aging." *Front Cardiovasc Med* 5 (2018): 12.
33. Kawaguchi, K., S. E. Kim, D. Sugiyama, M. Sugimoto, and M. Maruyama. "Age-Associated Alterations in Murine Dermis through Inflammatory Response with Mitochondrial DNA Deletions." *Geriatr Gerontol Int* 19, no. 5 (2019): 451-57.
34. Krutmann, J., A. Boulloc, G. Sore, B. A. Bernard, and T. Passeron. "The Skin Aging Exposome." *J Dermatol Sci* 85, no. 3 (2017): 152-61.
35. Bosset, S., M. Bonnet-Duquennoy, P. Barré, A. Chalon, R. Kurfurst, F. Bonté, S. Schnébert, B. Le Varlet, and J. F. Nicolas. "Photoageing Shows Histological Features of Chronic Skin Inflammation without Clinical and Molecular Abnormalities." *Br J Dermatol* 149, no. 4 (2003): 826-35.
36. Cavinato, M., and P. Jansen-Dürr. "Molecular Mechanisms of Uvb-Induced Senescence of Dermal Fibroblasts and Its Relevance for Photoaging of the Human Skin." *Exp Gerontol* 94 (2017): 78-82.
37. Blokland, K. E. C., S. D. Pouwels, M. Schuliga, D. A. Knight, and J. K. Burgess. "Regulation of Cellular Senescence by Extracellular Matrix During Chronic Fibrotic Diseases." *Clin Sci (Lond)* 134, no. 20 (2020): 2681-706.
38. Birch-Machin, M. A., E. V. Russell, and J. A. Latimer. "Mitochondrial DNA Damage as a Biomarker for Ultraviolet Radiation Exposure and Oxidative Stress." *Br J Dermatol* 169 Suppl 2 (2013): 9-14.
39. Albrecht, S., S. Jung, R. Müller, J. Lademann, T. Zuberbier, L. Zastrow, C. Reble, I. Beckers, and M. C. Meinke. "Skin Type Differences in Solar-Simulated Radiation-Induced Oxidative Stress." *Br J Dermatol* 180, no. 3 (2019): 597-603.
40. Freund, A., A. V. Orjalo, P. Y. Desprez, and J. Campisi. "Inflammatory Networks During Cellular Senescence: Causes and Consequences." *Trends Mol Med* 16, no. 5 (2010): 238-46.
41. Gilchrist, B. A. "Photoaging." *J Invest Dermatol* 133, no. E1 (2013): E2-6.
42. Pandel, R., B. Poljšak, A. Godic, and R. Dahmane. "Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention." *ISRN Dermatol* 2013 (2013): 930164.

43. Helfrich, Y. R., D. L. Sachs, and J. J. Voorhees. "Overview of Skin Aging and Photoaging." *Dermatol Nurs* 20, no. 3 (2008): 177-83; quiz 84.
44. Fuchs, Jürgen. *Environmental Stressors in Health and Disease*. Vol. 7: CRC Press, 2001.
45. Quan, T., Z. Qin, W. Xia, Y. Shao, J. J. Voorhees, and G. J. Fisher. "Matrix-Degrading Metalloproteinases in Photoaging." *J Invest Dermatol Symp Proc* 14, no. 1 (2009): 20-4.
46. Krutmann, Jean, Sérgio Schalka, Rachel Elizabeth Beatrice Watson, Liu Wei, and Akimichi Morita. "Daily Photoprotection to Prevent Photoaging." *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* 37, no. 6 (2021): 482-89.
47. Ullrich, Axel, and Joseph Schlessinger. "Signal Transduction by Receptors with Tyrosine Kinase Activity." *Cell* 61, no. 2 (1990): 203-12.
48. Scharffetter-Kochanek, K., M. Wlaschek, P. Brenneisen, M. Schauen, R. Blaudschun, and J. Wenk. "Uv-Induced Reactive Oxygen Species in Photocarcinogenesis and Photoaging." *Biol Chem* 378, no. 11 (1997): 1247-57.
49. Senftleben, U., and M. Karin. "The Ikk/Nf-Kappab Pathway." *Crit Care Med* 30, no. 1 Supp (2002): S18-s26.
50. Kang, S., G. J. Fisher, and J. J. Voorhees. "Photoaging and Topical Tretinoin: Therapy, Pathogenesis, and Prevention." *Arch Dermatol* 133, no. 10 (1997): 1280-4.
51. Chung, J. H., S. Kang, J. Varani, J. Lin, G. J. Fisher, and J. J. Voorhees. "Decreased Extracellular-Signal-Regulated Kinase and Increased Stress-Activated Map Kinase Activities in Aged Human Skin in Vivo." *J Invest Dermatol* 115, no. 2 (2000): 177-82.
52. McCabe, M. C., R. C. Hill, K. Calderone, Y. Cui, Y. Yan, T. Quan, G. J. Fisher, and K. C. Hansen. "Alterations in Extracellular Matrix Composition During Aging and Photoaging of the Skin." *Matrix Biol Plus* 8 (2020): 100041.
53. Watson, R. E., N. K. Gibbs, C. E. Griffiths, and M. J. Sherratt. "Damage to Skin Extracellular Matrix Induced by Uv Exposure." *Antioxid Redox Signal* 21, no. 7 (2014): 1063-77.
54. Weihermann, A. C., C. M. de Carvalho, D. C. Schuck, B. B. Swinka, R. M. Stuart, R. M. Graf, M. Lorencini, and C. A. Brohem. "Modulation of Photoaging-Induced Cutaneous Elastin: Evaluation of Gene and Protein Expression of Markers Related to Elastogenesis under Different Photoexposure Conditions." *Dermatol Ther (Heidelb)* 11, no. 6 (2021): 2043-56.
55. Rocquet, C, and F Bonté. "Molecular Aspects of Skin Ageing: Recent Data." *ACTA Dermatovenerologica alpina panonica et adriatica* 11, no. 3 (2002): 71-94.
56. Farage, Miranda A, Kenneth W Miller, and Howard I Maibach. *Textbook of Aging Skin*: Springer Science & Business Media, 2009.
57. Komatsu, Toshiyuki, Suguru Sasaki, Yuki Manabe, Takashi Hirata, and Tatsuya Sugawara. "Preventive Effect of Dietary Astaxanthin on Uva-Induced Skin Photoaging in Hairless Mice." *PLoS One* 12, no. 2 (2017): e0171178.
58. Shaulian, Eitan, and Michael Karin. "Ap-1 as a Regulator of Cell Life and Death." *Nature cell biology* 4, no. 5 (2002): E131-E36.
59. Poon, F., S. Kang, and A. L. Chien. "Mechanisms and Treatments of Photoaging." *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 31, no. 2 (2015): 65-74.
60. Yano, K., H. Oura, and M. Detmar. "Targeted Overexpression of the Angiogenesis Inhibitor Thrombospondin-1 in the Epidermis of Transgenic Mice Prevents Ultraviolet-B-Induced Angiogenesis and Cutaneous Photo-Damage." *J Invest Dermatol* 118, no. 5 (2002): 800-5.
61. Chung, J. H., and H. C. Eun. "Angiogenesis in Skin Aging and Photoaging." *J Dermatol* 34, no. 9 (2007): 593-600.
62. Schwarz, T. "Photoimmunosuppression." *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 18, no. 3 (2002): 141-5.
63. Trojahn, C., G. Dobos, A. Lichterfeld, U. Blume-Peytavi, and J. Kottner. "Characterizing Facial Skin Ageing in Humans: Disentangling Extrinsic from Intrinsic Biological Phenomena." *Biomed Res Int* 2015 (2015): 318586.
64. Flament, F., R. Bazin, S. Laquieze, V. Rubert, E. Simonpietri, and B. Piot. "Effect of the Sun on Visible Clinical Signs of Aging in Caucasian Skin." *Clin Cosmet Invest Dermatol* 6 (2013): 221-32.
65. Reilly, David M, and Jennifer Lozano. "Skin Collagen through the Lifestages: Importance for Skin Health and Beauty." *Plastic and Aesthetic Research* 8 (2021): 2.

66. Imokawa, G., and K. Ishida. "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." *Int J Mol Sci* 16, no. 4 (2015): 7753-75.
67. Panyosak, A., J. Manosroi, Y. Rojanasakul, and A. Manosroi. "Safety Assessment of Azelaic Acid and Its Derivatives Entrapped in Nanovesicles." *Hum Exp Toxicol* 28, no. 6-7 (2009): 387-92.
68. Schulte, B. C., W. Wu, and T. Rosen. "Azelaic Acid: Evidence-Based Update on Mechanism of Action and Clinical Application." *J Drugs Dermatol* 14, no. 9 (2015): 964-8.
69. Reszke, Radomir, and Jacek Szepietowski. "Kwas Azelainowy W Lecznictwie Dermatologicznym W Świetle Aktualnego Stanu Wiedzy." *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny* 103, no. 4 (2016): 337-43.
70. Simonart, T. "Newer Approaches to the Treatment of Acne Vulgaris." *Am J Clin Dermatol* 13, no. 6 (2012): 357-64.
71. Fitton, A., and K. L. Goa. "Azelaic Acid. A Review of Its Pharmacological Properties and Therapeutic Efficacy in Acne and Hyperpigmentary Skin Disorders." *Drugs* 41, no. 5 (1991): 780-98.
72. Mayer-da-Silva, A., H. Gollnick, M. Detmar, J. Gassmüller, A. Parry, R. Müller, and C. E. Orfanos. "Effects of Azelaic Acid on Sebaceous Gland, Sebum Excretion Rate and Keratinization Pattern in Human Skin. An in Vivo and in Vitro Study." *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 143 (1989): 20-30.
73. Barbareschi, M., I. Hendricks, A. Angius, M. Cattaneo, and M. Monti. "The Anticomedonic Activity of Azelaic Acid Investigated by Means of Scanning Electron Microscopy on Horny Layer Biopsy." *Journal of Dermatological Treatment* 2, no. 2 (1991): 55-57.
74. Sieber, M. A., and J. K. Hegel. "Azelaic Acid: Properties and Mode of Action." *Skin Pharmacol Physiol* 27 Suppl 1 (2014): 9-17.
75. Passi, S., M. Picardo, C. De Luca, and M. Nazzaro-Porro. "[Mechanism of Azelaic Acid Action in Acne]." *G Ital Dermatol Venereol* 124, no. 10 (1989): 455-63.
76. Gollnick, H. P., K. Graupe, and R. P. Zaumseil. "[Azelaic Acid 15% Gel in the Treatment of Acne Vulgaris. Combined Results of Two Double-Blind Clinical Comparative Studies]." *J Dtsch Dermatol Ges* 2, no. 10 (2004): 841-7.
77. Dulinski, Robert, and Krzysztof Zyla. "Effect of Exogenic Preparations on Content of Inositol Phosphates in Rye Dough and Rye Bread." *ZYWNOSC-NAUKA TECHNOLOGIA JAKOSC* 16 (2009): 53-66.
78. Bloot, Ana Paula Marinho, Daneysa Lahis Kalschne, Joana Andréa Soares Amaral, Ilton José Baraldi, and Cristiane Canan. "A Review of Phytic Acid Sources, Obtention, and Applications." *Food Reviews International* (2021): 1-20.
79. Hurrell. "Phytic Acid Degradation as a Means of Improving Iron Absorption." *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 74, no. 6 (2004): 445-52.
80. Brehm, Maria A., and Sabine Windhorst. "New Options of Cancer Treatment Employing Insp6." *Biochemical Pharmacology* 163 (2019): 206-14.
81. Masunaga, Takuya, Naoki Murao, Hiroshi Tateishi, Ryoko Koga, Takeo Ohsugi, Masami Otsuka, and Mikako Fujita. "Anti-Cancer Activity of the Cell Membrane-Permeable Phytic Acid Prodrug." *Bioorganic Chemistry* 92 (2019): 103240.
82. Norazalina, S., M. E. Norhaizan, I. Hairuszah, and M. S. Norashareena. "Anticarcinogenic Efficacy of Phytic Acid Extracted from Rice Bran on Azoxymethane-Induced Colon Carcinogenesis in Rats." *Experimental and Toxicologic Pathology* 62, no. 3 (2010): 259-68.
83. Babbush, K. M., R. A. Babbush, and A. Khachemoune. "Treatment of Melasma: A Review of Less Commonly Used Antioxidants." *Int J Dermatol* 60, no. 2 (2021): 166-73.
84. Kawashima, S., T. Funakoshi, Y. Sato, N. Saito, H. Ohsawa, K. Kurita, K. Nagata, M. Yoshida, and A. Ishigami. "Protective Effect of Pre- and Post-Vitamin C Treatments on Uvb-Irradiation-Induced Skin Damage." *Sci Rep* 8, no. 1 (2018): 16199.
85. Boo, Y. C. "Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to Increase Dermal Collagen for Skin Antiaging Purposes: Emerging Combination Therapies." *Antioxidants (Basel)* 11, no. 9 (2022).

86. Caritá, A. C., B. Fonseca-Santos, J. D. Shultz, B. Michniak-Kohn, M. Chorilli, and G. R. Leonardi. "Vitamin C: One Compound, Several Uses. Advances for Delivery, Efficiency and Stability." *Nanomedicine* 24 (2020): 102117.
87. Pullar, J. M., A. C. Carr, and M. C. M. Vissers. "The Roles of Vitamin C in Skin Health." *Nutrients* 9, no. 8 (2017).
88. Lévêque, N., P. Muret, S. Mary, S. Makki, J. P. Kantelip, A. Rougier, and P. Humbert. "Decrease in Skin Ascorbic Acid Concentration with Age." *Eur J Dermatol* 12, no. 4 (2002): Xxi-xxii.
89. Wang, K., H. Jiang, W. Li, M. Qiang, T. Dong, and H. Li. "Role of Vitamin C in Skin Diseases." *Front Physiol* 9 (2018): 819.
90. Levine, M., S. C. Rumsey, R. Daruwala, J. B. Park, and Y. Wang. "Criteria and Recommendations for Vitamin C Intake." *Jama* 281, no. 15 (1999): 1415-23.
91. Guzman-Sanchez, DA, and A McMichael. "Topical Uses of Vitamin C: How Ascorbic Acid Is Being Used in Dermatology." *Skin & Aging* 14 (2006): 52-59.
92. Jones, D. "Reactive Oxygen Species and Rosacea." *Cutis* 74, no. 3 Suppl (2004): 17-20, 32-4.
93. Maione-Silva, L., E. G. de Castro, T. L. Nascimento, E. R. Cintra, L. C. Moreira, B. A. S. Cintra, M. C. Valadares, and E. M. Lima. "Ascorbic Acid Encapsulated into Negatively Charged Liposomes Exhibits Increased Skin Permeation, Retention and Enhances Collagen Synthesis by Fibroblasts." *Sci Rep* 9, no. 1 (2019): 522.
94. Tajima, S., and S. R. Pinnell. "Ascorbic Acid Preferentially Enhances Type I and Iii Collagen Gene Transcription in Human Skin Fibroblasts." *J Dermatol Sci* 11, no. 3 (1996): 250-3.
95. Peterkofsky, B. "The Effect of Ascorbic Acid on Collagen Polypeptide Synthesis and Proline Hydroxylation During the Growth of Cultured Fibroblasts." *Arch Biochem Biophys* 152, no. 1 (1972): 318-28.
96. Geesin, J. C., D. Darr, R. Kaufman, S. Murad, and S. R. Pinnell. "Ascorbic Acid Specifically Increases Type I and Type Iii Procollagen Messenger Rna Levels in Human Skin Fibroblast." *J Invest Dermatol* 90, no. 4 (1988): 420-4.
97. Murad, S., D. Grove, K. A. Lindberg, G. Reynolds, A. Sivarajah, and S. R. Pinnell. "Regulation of Collagen Synthesis by Ascorbic Acid." *Proc Natl Acad Sci U S A* 78, no. 5 (1981): 2879-82.
98. Stamford, N. P. "Stability, Transdermal Penetration, and Cutaneous Effects of Ascorbic Acid and Its Derivatives." *J Cosmet Dermatol* 11, no. 4 (2012): 310-7.
99. Nusgens, B. V., P. Humbert, A. Rougier, A. C. Colige, M. Haftek, C. A. Lambert, A. Richard, P. Creidi, and C. M. Lapière. "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* 116, no. 6 (2001): 853-9.
100. Ponc, M., A. Weerheim, J. Kempenaar, A. Mulder, G. S. Gooris, J. Bouwstra, and A. M. Mommaas. "The Formation of Competent Barrier Lipids in Reconstructed Human Epidermis Requires the Presence of Vitamin C." *J Invest Dermatol* 109, no. 3 (1997): 348-55.
101. Kang, J. S., H. N. Kim, D. J. Jung, J. E. Kim, G. H. Mun, Y. S. Kim, D. Cho, D. H. Shin, Y. I. Hwang, and W. J. Lee. "Regulation of Uvb-Induced Il-8 and Mcp-1 Production in Skin Keratinocytes by Increasing Vitamin C Uptake Via the Redistribution of Svct-1 from the Cytosol to the Membrane." *J Invest Dermatol* 127, no. 3 (2007): 698-706.
102. Marionnet, Claire, Corinne Vioux-Chagnoleau, Cécile Pierrard, Juliette Sok, Daniel Asselineau, and Françoise Bernerd. "Morphogenesis of Dermal–Epidermal Junction in a Model of Reconstructed Skin: Beneficial Effects of Vitamin C." *Experimental dermatology* 15, no. 8 (2006): 625-33.
103. Lin, Jin-ran, Hai-hong Qin, Wen-yu Wu, Shu-juan He, and Jin-hua Xu. "Vitamin C Protects against Uv Irradiation-Induced Apoptosis through Reactivating Silenced Tumor Suppressor Genes P21 and P16 in a Tet-Dependent DNA Demethylation Manner in Human Skin Cancer Cells." *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* 29, no. 6 (2014): 257-64.
104. Pinnell, Sheldon R, Huanshu Yang, Mostafa Omar, Nancy Monteiro Riviere, Holly V Debuys, Linda C Walker, Yaohui Wang, and Mark Levine. "Topical L-Ascorbic Acid: Percutaneous Absorption Studies." *Dermatologic surgery* 27, no. 2 (2001): 137-42.
105. Traikovitch, Steven S. "Use of Topical Ascorbic Acid and Its Effects on Photodamaged Skin Topography." *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery* 125, no. 10 (1999): 1091-98.

106. Bolzinger, Marie-Alexandrine, Stéphanie Briançon, Jocelyne Pelletier, and Yves Chevalier. "Penetration of Drugs through Skin, a Complex Rate-Controlling Membrane." *Current opinion in colloid & interface science* 17, no. 3 (2012): 156-65.
107. Caspers, PJ, GW Lucassen, HA Bruining, and GJ Puppels. "Automated Depth-Scanning Confocal Raman Microspectrometer for Rapid in Vivo Determination of Water Concentration Profiles in Human Skin." *Journal of Raman spectroscopy* 31, no. 8-9 (2000): 813-18.
108. Linster, C. L., and E. Van Schaftingen. "Vitamin C. Biosynthesis, Recycling and Degradation in Mammals." *Febs j* 274, no. 1 (2007): 1-22.
109. Farahmand, S., H. Tajerzadeh, and E. S. Farboud. "Formulation and Evaluation of a Vitamin C Multiple Emulsion." *Pharm Dev Technol* 11, no. 2 (2006): 255-61.
110. Duarah, S., R. D. Durai, and V. B. Narayanan. "Nanoparticle-in-Gel System for Delivery of Vitamin C for Topical Application." *Drug Deliv Transl Res* 7, no. 5 (2017): 750-60.
111. Singh, A., and S. Yadav. "Microneedling: Advances and Widening Horizons." *Indian Dermatol Online J* 7, no. 4 (2016): 244-54.
112. Bahuguna, Amit. "Micro Needling-Facts and Fictions." *Asian Journal of Medical Sciences* 4, no. 3 (2013): 1-4.
113. Falabella, A.F.; Falanga, V. "Wound Healing. The Biology of the Skin.", edited by Parethenon. New York, 2001.
114. Fabbrocini, G., N. Fardella, A. Monfrecola, I. Proietti, and D. Innocenzi. "Acne Scarring Treatment Using Skin Needling." *Clin Exp Dermatol* 34, no. 8 (2009): 874-9.
115. Majid, Imran, Gousia Sheikh, and PI September. "Microneedling and Its Applications in Dermatology." Paper presented at the Prime 2014.
116. Aust, M. C., D. Fernandes, P. Kolokythas, H. M. Kaplan, and P. M. Vogt. "Percutaneous Collagen Induction Therapy: An Alternative Treatment for Scars, Wrinkles, and Skin Laxity." *Plast Reconstr Surg* 121, no. 4 (2008): 1421-29.
117. Nair, Pragya A, and Tanu H Arora. "Microneedling Using Dermaroller: A Means of Collagen Induction Therapy." *GMJ* 69, no. 1 (2014): 24-27.
118. Liebl, H., and L. C. Kloth. "Skin Cell Proliferation Stimulated by Microneedles." *J Am Coll Clin Wound Spec* 4, no. 1 (2012): 2-6.
119. El-Domyati, M., M. Barakat, S. Awad, W. Medhat, H. El-Fakahany, and H. Farag. "Multiple Microneedling Sessions for Minimally Invasive Facial Rejuvenation: An Objective Assessment." *Int J Dermatol* 54, no. 12 (2015): 1361-9.
120. Bhardwaj, Deepali. "Collagen Induction Therapy with Dermaroller." *Community Based Medical Journal* 1, no. 1 (2012): 35-37.
121. McCrudden, M. T., E. McAlister, A. J. Courtenay, P. González-Vázquez, T. R. Singh, and R. F. Donnelly. "Microneedle Applications in Improving Skin Appearance." *Exp Dermatol* 24, no. 8 (2015): 561-6.
122. Dobrev, Hristo. "Novel Ideas: The Increased Skin Viscoelasticity - a Possible New Fifth Sign for the Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis." *Current Rheumatology Reviews* 9 (2013): 261-67.
123. Zegarska, B.; Woźniak, M. "Przyczyny Wewnętrznych Starzenia Się Skóry." *Gerontologia Polska* 14, no. 4 (2006): 153-59.
124. Yaar, M, MS Lee, TM Rüniger, MS Eller, and B Gilchrest. "Telomere Mimetic Oligonucleotides Protect Skin Cells from Oxidative Damage." Paper presented at the Annales de Dermatologie et de Vénérologie 2002.
125. Varani, J, Patricia Perone, Roscoe L Warner, Michael K Dame, SEWON Kang, GARY J Fisher, and JOHN J Voorhees. "Vascular Tube Formation on Matrix Metalloproteinase-1-Damaged Collagen." *British journal of cancer* 98, no. 10 (2008): 1646-52.
126. Yaar, M., and B. A. Gilchrest. "Photoageing: Mechanism, Prevention and Therapy." *Br J Dermatol* 157, no. 5 (2007): 874-87.
127. Wadstein, Jan, Israel Sánchez Alvarez, and Lidia Bernal López. "Managing Skin Ageing as a Modifiable Disorder—the Clinical Application of Nourella®; Dual Approach Comprising a Nano-Encapsulated Retinoid, Retilex-a®; and a Skin Proteoglycan Replacement Therapy, Vercilex®." *Cosmetics* 9, no. 2 (2022): 31.

128. Zhang, S., and E. Duan. "Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside." *Cell Transplant* 27, no. 5 (2018): 729-38.
129. Meng, Jiao, Zhenyu Lv, Xinhua Qiao, Xiaopeng Li, Yazi Li, Yuying Zhang, and Chang Chen. "The Decay of Redox-Stress Response Capacity Is a Substantive Characteristic of Aging: Revising the Redox Theory of Aging." *Redox Biology* 11 (2017): 365-74.
130. Yaar, M., M. S. Eller, and B. A. Gilchrest. "Fifty Years of Skin Aging." *J Investig Dermatol Symp Proc* 7, no. 1 (2002): 51-8.
131. Freedberg, Irwin-M, Arthur Z Eisen, K Frank Austen, Lowell A Goldsmith, and Stephen I Katz. "'Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine' 6. Bask." (2003).
132. Nouveau-Richard, S., Z. Yang, S. Mac-Mary, L. Li, P. Bastien, I. Tardy, C. Bouillon, P. Humbert, and O. de Lacharrière. "Skin Ageing: A Comparison between Chinese and European Populations. A Pilot Study." *J Dermatol Sci* 40, no. 3 (2005): 187-93.
133. Masaki, Hitoshi. "Role of Antioxidants in the Skin: Anti-Aging Effects." *Journal of Dermatological Science* 58, no. 2 (2010): 85-90.
134. Tan, A. U., B. J. Schlosser, and A. S. Paller. "A Review of Diagnosis and Treatment of Acne in Adult Female Patients." *Int J Womens Dermatol* 4, no. 2 (2018): 56-71.
135. Szepletowski, J; Reich A. "Kwas Azelainowy W Podłożu Żelowym: Zastosowanie W Trądziku Zwyczajnym I Trądziku Różowatym." *Dermatologia Kliniczna* 5, no. 4 (2003): 223-26
136. Bertuzzi, A., A. Gandolfi, S. Salinari, G. Mingrone, E. Arcieri-Mastromattei, E. Finotti, and A. V. Greco. "Pharmacokinetic Analysis of Azelaic Acid Disodium Salt. A Proposed Substrate for Total Parenteral Nutrition." *Clin Pharmacokinet* 20, no. 5 (1991): 411-9.
137. Jones, D. A. "Rosacea, Reactive Oxygen Species, and Azelaic Acid." *J Clin Aesthet Dermatol* 2, no. 1 (2009): 26-30.
138. Pelle, M. T., G. H. Crawford, and W. D. James. "Rosacea: Ii. Therapy." *J Am Acad Dermatol* 51, no. 4 (2004): 499-512; quiz 13-4.
139. Rigano, Luigi, and M. Cucchiara. "Azeloyl-Glycine: A New Active in Skin Disequilibrium." *Journal of Applied Cosmetology* 21 (2003): 177-88.
140. Holland, Kt, and Ra Bojar. "Antimicrobial Effects of Azelaic Acid." *Journal of Dermatological Treatment* 4, no. sup1 (1993): S8-S11.
141. Wójcik, Aneta, Marlena Kubiak, and Helena Rotsztej. "Original Paperinfluence of Azelaic and Mandelic Acid Peels on Sebum Secretion in Ageing Women." *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii* 30, no. 3 (2013): 140-45.
142. Kaliterna, Dušanka Martinović, Kristina Žužul, and Igor M. Kovačević. "Melasma-Review of Current Treatment Modalities and Efficacy Assessment of a New Resorcinolbased Topical Formulation." 2017.
143. Nielson, C; Hsu, S.; Motaparathi, K. "Topical Antibacterial Agents." In *Wolverton Se, Ed. Comprehensive Dermatologic Drug Therapy. 4th Ed.*, 465-79: Elsevier, 2021.
144. Murray, M.T.; Nowicki, J. . "216 -Rosacea." In *Textbook of Natural Medicine. 5th Ed.* , edited by J.E.; Murray Pizzorno, M.T.; eds. , 1777-80: Churchill Livingstone, 2020.
145. Faghihi, G., A. Taheri, Z. Shahmoradi, and M. A. Nilforoushzadeh. "Solution of Azelaic Acid (20%), Resorcinol (10%) and Phytic Acid (6%) Versus Glycolic Acid (50%) Peeling Agent in the Treatment of Female Patients with Facial Melasma." *Adv Biomed Res* 6 (2017): 9.
146. Jacobus Berlitz, S., D. De Villa, L. A. Maschmann Inácio, S. Davies, K. C. Zatta, S. S. Guterres, and I. C. Külkamp-Guerreiro. "Azelaic Acid-Loaded Nanoemulsion with Hyaluronic Acid - a New Strategy to Treat Hyperpigmentary Skin Disorders." *Drug Dev Ind Pharm* 45, no. 4 (2019): 642-50.
147. Szymańska, A., E. Budzisz, and A. Erkiert-Polguj. "Efficacy of 30% Azelaic Acid Peel in the Nonpharmacological Treatment of Facial Acne." *J Dermatolog Treat* 32, no. 3 (2021): 291-96.
148. Kishimoto, Y., N. Saito, K. Kurita, K. Shimokado, N. Maruyama, and A. Ishigami. "Ascorbic Acid Enhances the Expression of Type 1 and Type 4 Collagen and Svct2 in Cultured Human Skin Fibroblasts." *Biochem Biophys Res Commun* 430, no. 2 (2013): 579-84.
149. Duarte, T. L., M. S. Cooke, and G. D. Jones. "Gene Expression Profiling Reveals New Protective Roles for Vitamin C in Human Skin Cells." *Free Radic Biol Med* 46, no. 1 (2009): 78-87.

150. Farris, P. K. "Topical Vitamin C: A Useful Agent for Treating Photoaging and Other Dermatologic Conditions." *Dermatol Surg* 31, no. 7 Pt 2 (2005): 814-7; discussion 18.
151. Houshmand, E. B. "Effect of Glycolic Acid, Phytic Acid, Soothing Complex Containing Emulsion on Hyperpigmentation and Skin Luminosity: A Clinical Evaluation." *J Cosmet Dermatol* 20, no. 3 (2021): 776-80.
152. Levy, J. L., F. Pons, L. Agopian, and R. Besson. "A Double-Blind Controlled Study of a Nonhydroquinone Bleaching Cream in the Treatment of Melasma." *J Cosmet Dermatol* 4, no. 4 (2005): 272-6.
153. Nautiyal, A., and S. Wairkar. "Management of Hyperpigmentation: Current Treatments and Emerging Therapies." *Pigment Cell Melanoma Res* 34, no. 6 (2021): 1000-14.
154. Raschke, T., U. Koop, H.-J. Düsing, A. Filbry, K. Sauermann, S. Jaspers, H. Wenck, and K.-P. Wittern. "Topical Activity of Ascorbic Acid: From in Vitro Optimization to in Vivo Efficacy." *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology* 17, no. 4 (2004): 200-06.
155. FITZPATRICK, RICHARD E., and ELIZABETH F. ROSTAN. "Double-Blind, Half-Face Study Comparing Topical Vitamin C and Vehicle for Rejuvenation of Photodamage." *Dermatologic Surgery* 28, no. 3 (2002): 231-36.
156. Philippe, Humbert, Louvrier Loriane, Saas Philippe, and Viennet Céline. "Vitamin C, Aged Skin, Skin Health." In *Vitamin C*, edited by LeBlanc Jean Guy, Ch. 4. Rijeka: IntechOpen, 2018.
157. Sauermann, Kirsten, Sören Jaspers, Urte Koop, and Horst Wenck. "Topically Applied Vitamin C Increases the Density of Dermal Papillae in Aged Human Skin." *BMC Dermatology* 4, no. 1 (2004): 13.
158. Humbert, P. G., M. Haftek, P. Creidi, C. Lapière, B. Nusgens, A. Richard, D. Schmitt, A. Rougier, and H. Zahouani. "Topical Ascorbic Acid on Photoaged Skin. Clinical, Topographical and Ultrastructural Evaluation: Double-Blind Study Vs. Placebo." *Exp Dermatol* 12, no. 3 (2003): 237-44.
159. Jung, Gyu Sik, Jeung Ryeol Eom, Hyeon Jun Jeon, Seung Gyun Chu, Eugene Oh, and Jae Woong Lee. "Facial Rejuvenating Effects of Mesotherapy Using a New Polycomponent Formulation." *Medical Lasers* 7, no. 2 (2018): 69-73.
160. Matthews-Brzozowska, Teresa, Monika Łacka, Magdalena Bernacka, and Maciej Lichaj. "Mesotherapy – a Method of Facial Skin Rejuvenation from an Interdisciplinary Perspective on Improving Facial Aesthetics." *Journal of Medical Science* 86, no. 4 (2017): 308-12.



## XII. ZAŁĄCZNIKI

### Załącznik nr 1 - Formularz świadomej zgody badanego

Na udział w badaniu pt.: „Zastosowanie jedno- i wieloskładnikowych preparatów, zawierających kwas azelainowy, fitowy i L-askorbowy w zabiegach przeciwstarzeniowych skóry”.

Ja (imię i nazwisko badanego) .....oświadczam, że otrzymał/em/am i zapoznał /em/am się z treścią informacji dla badanego. Doktorantka przeprowadzająca badanie udzieliła mi wyczerpujących odpowiedzi na moje pytania. Jestem wystarczająco poinformowany/a.

Świadomie i dobrowolnie wyrażam zgodę na wykonanie serii zabiegów z wyżej wymienionymi substancjami. Wiem, że mogę cofnąć swoją zgodę w dowolnej chwili bez wpływu na opiekę lekarską jakiej będę potrzebować.

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

Podpisy:

Badanego .....

Studenta.....

Łódź, dnia.....

## Załącznik nr 2 – Ankieta subiektywnej oceny uczestników badania

*Drogi respondencie, zwracamy się z uprzejmą prośbą o wypełnienie ankiety dotyczącej stanu skóry po serii zabiegów kosmetycznych. Prosimy o szczerą odpowiedź.*

*Wypełnienie ankiety jest równoznaczne z wyrażeniem zgody na wykorzystanie danych (informacji) w niej zawartych jedynie do opracowań naukowych.*

Projekt badawczy realizowany przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

1. W jakim jest Pani wieku?

- a) 35-40 lat
- b) 40-50lat
- c) 50-60 lat
- d) 60-70 lat

2. Jaki ma Pani typ cery (według własnej opinii)?

- a) sucha
- b) tłusta
- c) naczyniowa i wrażliwa
- d) mieszana

3. Czy miewa Pani problemy ze skórą? Jeśli tak, to jakie? (Można wybrać więcej niż jedną odpowiedź)

- a) przebarwienia
- b) zmarszczki
- c) nadmierna suchość skóry
- d) uczucie ściągnięcia skóry
- e) rozszerzone pory
- f) napadowy rumień
- g) teleangiektazje – trwale rozszerzone naczynia włosowate przeświecające przez naskórek
- j) nie mam problemów ze skórą

4. Jak ocenia Pani/Pan ogólny stan swojej skóry?

- a) bardzo dobrze
- b) dobrze
- c) średnio
- d) źle
- e) bardzo źle

5. Czy po zabiegu pojawiły się skutki uboczne?

- a) Tak
- b) Nie

*Jeśli odpowiedziała Pani na pytanie nr 5 NIE to proszę przejść do pytania nr 11*

6. Czym objawiały się skutki uboczne? (Można zaznaczyć więcej niż 1 odpowiedź)

- a) świąd
- b) pieczenie

- c) obrzęk
- d) rumień
- e) uczucie ściągnięcia skóry
- f) łuszczenie się skóry
- g) inne: .....

7. Jak często pojawiały się wyżej wymienione skutki uboczne?

- a) Po każdym zabiegu
- b) Tylko po pierwszych zabiegach w serii
- c) Tylko pod koniec serii
- d) Trudno powiedzieć

8. Jak długo utrzymywały się skutki uboczne?

- a) Kilka godzin po zabiegu
- b) 1-2 dni po zabiegu
- c) Co najmniej 3 dni
- d) Trudno powiedzieć

9. Czy ze względu na występujące efekty uboczne przerwała Pani serię zabiegów?

- a.) tak
- b.) nie

10. Czy występujące skutki uboczne wpłynęły na Pani jakość życia (złe samopoczucie, obniżona samoocena, zrezygnowanie z aktywności zawodowych itp.)?

- a) Tak
- b) Raczej tak
- c) Nie
- d) Raczej nie
- e) Trudno powiedzieć

11. Proszę ocenić czy po 8 zabiegach, zauważyła Pani następujące efekty działania terapii

Zaznacz „X” właściwą odpowiedź

Parametr	Skala oceny	brak zmian	nieznaczna poprawa	znaczna poprawa	całkowite wyeliminowanie problemu
przywrócenie naturalnego kolorytu skóry					
zmniejszenie uczucia napięcia i podrażnienie skóry					
poprawa elastyczności skóry					

ukojenie zaczerwienień i podrażnień skóry				
nawilżenie skóry				
zmniejszenie nadwrażliwości skóry na czynniki zewnętrzne				
zmniejszenie widoczności zmarszczek				

12. Czy podczas zabiegu odczuwała Pani dyskomfort?

- a) tak, znaczny
- b) średni
- c) niewielki
- d) nie odczuwałam

13. Czy jest Pani zadowolona z efektów kuracji?

- a) tak, bardzo
- b) raczej tak
- c) raczej nie
- d) nie
- e) stan skóry uległ pogorszeniu

14. Po którym zabiegu zauważyła Pani poprawę kondycji skóry?

- a) 2
- b) 4
- c) 6
- d) 8
- e) Nie zauważyłam poprawy

15. Czy jeszcze raz poddałaby się Pani zabiegom?

- a) Na pewno tak
- b) Raczej tak
- c) Na pewno nie
- d) Raczej nie
- e) Trudno powiedzieć

*Dziękujemy za wypełnienie ankiety.*

## Załącznik nr 3 – Analiza bibliometryczna

JM01.545.183.2023

### Spis publikacji – mgr Agata Markiewicz-Tomczyk

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

Łącznie 25 cytowań (25 bez autocytowań), indeks Hirscha wynosi 2 (Źródło: ISI Web of Science Core Collection).

Łącznie 32 cytowań (32 bez autocytowań), indeks Hirscha wynosi 3 (Źródło: Scopus).

#### 1. Punktacja wg list MEiN oraz współczynnik impact factor prac umieszczonych w dysertacji:

Prace	Oznaczenie autorstwa	IF z roku publ	MEiN z roku publ	Typ publ
Markiewicz-Tomczyk Agata Monika, Budzisz Elżbieta, Erkiert-Polguj Anna : Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy - Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III, Journal of Cosmetic Dermatology, 2022, vol. 21, nr 12, s.6830-6839. DOI:10.1111/jocd.15359	pierwszy	2,189	70	oryginal
Markiewicz-Tomczyk Agata, Budzisz Elżbieta, Erkiert-Polguj Anna : A Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments, Journal of Clinical Medicine, 2023, vol. 12, nr 5, s.1-13, Numer artykułu:1869. DOI:10.3390/jcm12051869	pierwszy	4,964	140	oryginal
Agata Markiewicz-Tomczyk, Elżbieta Budzisz, Anna Erkiert-Polguj, Assessment of effectiveness of 20% and 30% azelaic acid in anti-aging treatment, str 85-96 W: Problemy współczesnej medycyny. Część III, red. Monika Łukomska-Szymańska, Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Łódź, 2023	pierwszy		20	rozdział
<b>SUMA</b>		<b>7,153</b>	<b>230</b>	

1 z 2

#### 2. Punktacja wg list MEiN oraz współczynnik impact factor prac z wyłączeniem prac umieszczonych w dysertacji

Prace	Oznaczenie autorstwa	IF z roku publ	MEiN z roku publ	Typ publ
Zasada Malwina, Markiewicz Agata, Drożdż Zuzanna [i in.]: Preliminary randomized controlled trial of antiaging effects of L-ascorbic acid applied in combination with no needle and microneedle mesotherapy, Journal of Cosmetic Dermatology, 2019, vol. 18, nr 3, s.843-849. DOI:10.1111/jocd.12727		1,621	70	oryginal
Erkiert-Polguj Anna, Algiert-Zielińska Barbara, Zduńska Kamila, Markiewicz Agata [i in.]: The evaluation of elasticity after nonablative radiofrequency rejuvenation, Journal of Cosmetic Dermatology, 2019, vol. 18, nr 2, s.511-516. DOI:10.1111/jocd.12689		1,621	70	oryginal
Markiewicz-Tomczyk Agata, Zasada Malwina, Erkiert-Polguj Anna [i in.]: An evaluation of the antiaging properties of strawberry hydrolysate treatment enriched with L-ascorbic acid applied with microneedle mesotherapy, Journal of Cosmetic Dermatology, 2019, vol. 18, nr 1, s.129-135. DOI:10.1111/jocd.12545	pierwszy	1,621	70	oryginal
Markiewicz A, Tyszczyk B, Pivko M, Zielinski K, Polguj AR, et al. (2018) The Evaluation of the Efficacy of Derivatives of Vitamin K. J Clin Exp Dermatol Res 9: 455. doi:10.4172/2155-9570.1000455	pierwszy	brak	brak	oryginal
<b>SUMA</b>		<b>4,863</b>	<b>210</b>	

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁÓDZI  
Centrum Informacyjno-Biblioteczne  
Oddział Bibliografii i Bibliometrii  
90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 2  
tel. 42 272-54-23, 272-54-22  
e-mail: punktacja@umed.lodz.pl  
mgr Aleksandra Andrzejewska  
Oddział Bibliografii i Bibliometrii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
punktacja@umed.lodz.pl

2 z 2

## Załącznik nr 4 – Zgoda komisji bioetycznej

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIwersYTECIE MEDYCZNYM W ŁODZI  
Pl. Hallera 1B, 90-647 Łódź, tel. 0 795 911 596, 42 772-52-43, [bioetyka@umw.lodz.pl](mailto:bioetyka@umw.lodz.pl)

### UCHWAŁA

#### KOMISJI BIOETYCZNEJ O PROJEKcie EKSPERYMENTU MEDYCZNEGO Numer RNN/211/18/KK z dnia 12 czerwca 2018 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 Agata Markiewicz, Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 91-151 Łódź  
Opiekun naukowy badania: prof.dr hab.n.farm. Elżbieta Budzisz

Tytuł badania:

Zastosowanie jedno- i wieloskładnikowych preparatów, zawierających kwas azelainowy, laktobionowy, fitowy i L-askorbowy w zabiegach przeciwstarzeniowych skóry.

Na podstawie ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentyisty (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 wiszczania 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) uchwała, co następuje:

#### § 1

1. Pozytywnie opiniuje wniosek dotyczący badania, na podstawie złożonych dokumentów, których wykaz określa załącznik nr 1.
2. Wniosek zaopiniowany został bez dodatkowych zastrzeżeń.

#### § 2

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

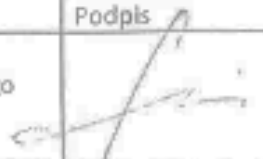



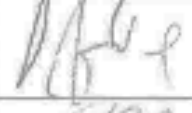


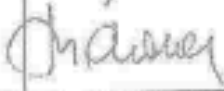
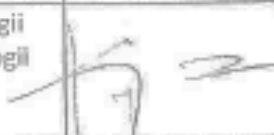


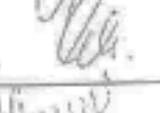

Odwołanie od niniejszej uchwały wnosi się za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi do Odwoławczej Komisji Bioetycznej, w terminie 14 dni od dnia otrzymania uchwały wyrażającej opinię.

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 12 czerwca 2018 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.	Dr hab. n. med. prof. nadzw. Jarosław Kalinka	Lekarz medycyny ginekolog – położnik perinatolog	Klinika Perinatologii, I Katedry Ginekologii i Położnictwa UM w Łodzi	
5.	Prof. dr hab. n. med. Iwona Kłoszewska	Lekarz medycyny psychiatra	Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych UM w Łodzi	
6.	Prof. dr hab. n. med. Janusz Piekarski	Lekarz medycyny, chirurg onkolog	Klinika Chirurgii Onkologicznej UM w Łodzi	
7.	Prof. dr hab. n. med. Henryk Stępień	Lekarz medycyny, endokrynologia	Zakład Immunoendokrynologii UM w Łodzi	
8.	Dr hab. n. med. prof. nadm. 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 Wieków Rozwojowego UM w Łodzi	
10.	Dr n. praw. Rafał Budzisz	Prawnik	Uniwersytet Łódzki w Łodzi	
11.	Mgr Elżbieta Kubańska	Pielęgniarka	Pracownik emerytowany	
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 5 – Oświadczenia współautorów



UNIwersytet  
MEDYCZNY  
W ŁODZI

Wydział Farmaceutyczny  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych  
Ul. Muszyńskiego 1, 91-151 Łódź

Łódź, dn 14.06.2023

### OŚWIADCZENIE

Niniejsze oświadczenie dotyczy następujących artykułów:

1. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Assessment of effectiveness of 20% and 30% azelaic acid in anti-aging treatment. Problemy współczesnej medycyny cz. III, 2023, 7, 85-97
2. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy-Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III. J Cosmet Dermatol. 2022 Dec;21(12):6830-6839. doi: 10.1111/jocd.15359.
3. Markiewicz-Tomczyk, A.; Budzisz, E.; Erkiert-Polguj, A. A. Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments. J. Clin. Med. 2023, 12, 1869.  
<https://doi.org/10.3390/jcm12051869>

Oświadczam że mój udział w wyżej wymienionych pracach obejmował: nadzór nad badaniami aparaturowymi i wykonaniem dokumentacji fotograficznej, konsultację merytoryczną wyników i tekstów publikacji

**Dr n. med. Anna Erkiert-Polguj**



Łódź, dn. 18.06.2023r.

### OŚWIADCZENIE

Niniejsze oświadczenie dotyczy następujących artykułów:

1. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Assessment of effectiveness of 20% and 30% azelaic acid in anti-aging treatment. Problemy współczesnej medycyny cz. III, 2023, 7, 85-97
2. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy-Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III. J Cosmet Dermatol. 2022 Dec;21(12):6830-6839. doi: 10.1111/jocd.15359.
3. Markiewicz-Tomczyk, A.; Budzisz, E.; Erkiert-Polguj, A. A. Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments. J. Clin. Med. 2023, 12, 1869.  
<https://doi.org/10.3390/jcm12051869>

Oświadczam że mój udział w wyżej wymienionych pracach obejmował: nadzór merytoryczny oraz przegląd manuskryptu.



Prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz

Wydział Farmaceutyczny  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych  
Ul. Muszyńskiego 1, 91-151 Łódź

Łódź, dn 14.06.2023r...

### OŚWIADCZENIE

Niniejsze oświadczenie dotyczy następujących artykułów:

1. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Assessment of effectiveness of 20% and 30% azelaic acid in anti-aging treatment. Problemy współczesnej medycyny cz. III, 2023, 7, 85-97
2. Markiewicz-Tomczyk A, Budzisz E, Erkiert-Polguj A. Clinical evaluation of anti-aging effects of combined therapy-Azelaic acid, phytic acid, and vitamin C applied layer by layer in females with Fitzpatrick skin types II and III. J Cosmet Dermatol. 2022 Dec;21(12):6830-6839. doi: 10.1111/jocd.15359.
3. Markiewicz-Tomczyk, A.; Budzisz, E.; Erkiert-Polguj, A. A. Subjective and Objective Assessment of Combined Methods of Applying Chemical Peels and Microneedling in Antiaging Treatments. J. Clin. Med. 2023, 12, 1869.  
<https://doi.org/10.3390/jcm12051869>

Oświadczam że mój udział w wyżej wymienionych pracach obejmował: opracowanie koncepcji badań, wykonanie serii zabiegów z udziałem probantów, wykonanie badań aparaturowych, wykonanie dokumentacji fotograficznej, zebranie i opracowanie analizy statystycznej, opracowanie i interpretację wyników badań, przygotowanie publikacji.

**Agata Markiewicz-Tomczyk**

*Agata Markiewicz-Tomczyk*

