

Informe Técnico



Producto

RELISTASE™

Código

PD170

Fecha

Mayo 2010

Revisión

0

 **Lipotec**
We research for you



Pol. Ind. Camí Ral C/ Isaac Peral, 17
08850 Gavà Barcelona (Spain)
Tel. +34 93 638 80 00
www.lipotec.com
commercial@lipotec.com

Lipotec Group

ÍNDICE

Página

INTRODUCCIÓN	3
DESCRIPCIÓN GENERAL	4
PROPIEDADES COSMÉTICAS	7
<i>EFICACIA IN VITRO</i>	
Protección de la elastina de la elastasa pancreática porcina	8
Inhibición de la elastasa de neutrófilo humano	9
Evaluación de la inducción de colágeno tipo I en fibroblastos dérmicos humanos	10
<i>EFICACIA IN VIVO</i>	
Evaluación de la elasticidad y de la firmeza cutáneas	11
TOXICIDAD	
Citotoxicidad en queratinocitos epidérmicos humanos	13
Citotoxicidad en fibroblastos 3T3	13
Irritación ocular (ensayo HET-CAM)	13
Ensayo de fototoxicidad NRU	13
Ensayo de mutación bacteriana reversa (Ames test)	13
Sensibilización y compatibilidad cutánea	13
DATOS TÉCNICOS	
Presentación	14
Ingredientes	14
Especificaciones	14
Dosis	14
Procesado	14
Incompatibilidades	14
Solubilidad	14
Almacenamiento y caducidad	14
Formulación	15
REFERENCIAS	16

Introducción

Diversos factores medioambientales, hormonales y genéticos derivan en una pérdida de elasticidad de la piel con la edad. La piel madura se vuelve menos elástica y capaz de resistir cualquier deformación, resultando en muchas de las manifestaciones visibles del envejecimiento como arrugas, pérdida de firmeza y flacidez. La piel envejecida presenta una disminución de la renovación epidérmica y de la respuesta inflamatoria a los rayos UV, deterioro de la función inmune y reducción de la vascularización cutánea. Macroscópicamente, el resultado es una piel más gruesa y atrófica [1, 2].

La calidad de la piel se deteriora con la edad debido a los efectos sinérgicos del envejecimiento cronológico, fotoenvejecimiento, factores ambientales y deficiencia hormonal. El envejecimiento cronológico y el extrínseco son dos procesos que difieren notablemente, aunque presentan algunas similitudes. El envejecimiento hormonal de la piel debido a la pérdida de estrógenos en la menopausia se cree que incluye atrofia, disminución del contenido de colágeno, agua y secreciones sebáceas, y pérdida de elasticidad. Se ha publicado que el contenido total de colágeno disminuye un promedio de 2.1% por año postmenopáusico durante un periodo de 15 años [3].

La piel intrínsecamente envejecida presenta arrugas finas y parece lisa [4]. Durante el cronoenvejecimiento, la síntesis y la renovación de los nuevos componentes por los fibroblastos son más lentas, especialmente a partir de los 40 años, y la acción enzimática en las fibras es mayor, implicando pérdida de elasticidad en la piel y aparición de colágeno menos flexible y más endurecido [5]. Consecuentemente, cuando se presiona la piel, no recupera su posición inicial sino que se vuelve flácida y forma surcos, culminando en el desarrollo de las arrugas.

La radiación solar es la mayor responsable del envejecimiento extrínseco; sin embargo otros factores como la polución del aire, son también muy importantes [5]. La exposición excesiva al sol puede causar fotoenvejecimiento severo aumentando la activación proteolítica y mostrando una renovación anormal de la matriz extracelular (MEC). El resultado es una aceleración de la degradación de las fibras elásticas de la dermis conllevando una pérdida de la capacidad de la piel de resistir estiramientos [2]. Generalmente, las pieles sobreexpuestas al sol son papulares, gruesas, ásperas, presentan arrugas profundas y una marcada pérdida de elasticidad. Más tarde, en la fase final del daño actínico, la piel se puede volver atrófica y los vasos sanguíneos pueden parecer clínicamente anormales y prominentes [6].

Tanto el envejecimiento cronológico como el fotoenvejecimiento reducen la elasticidad de la piel, el cual es un factor esencial en la formación de las arrugas.

Descripción general

Las fibras elásticas son las responsables de la capacidad normal de recuperación de la piel. En situaciones donde las fibras elásticas están fragmentadas o ausentes, la piel presenta flacidez y carece de retroceso normal [6]. Cuando las fibras elásticas sufren elongación, su tendencia inmediata es volver a su posición inicial comportándose elásticamente (Fig. 1.). Esta elasticidad disminuye con el tiempo por diferentes razones como el envejecimiento natural y otros factores varios que aceleran o modifican el proceso natural (envejecimiento extrínseco y cambios bruscos de peso) [5].



Fig. 1. Fibras elásticas relajadas (izquierda) y fibras elásticas estiradas (derecha).

Las fibras elásticas forman parte del tejido conectivo extracelular siendo responsables de la elasticidad de la piel [6]. La elasticidad de la piel es una propiedad que se ve influida por la elastina, una proteína de la piel que, junto al colágeno y los glicosaminoglicanos, componen el tejido conectivo. La correlación de todos estos componentes ha de ser perfecta para garantizar las propiedades físicas de la piel. Las fibras de proteína se organizan para formar una red sumergida en una matriz de agua y glicosaminoglicanos. Los fibroblastos están incluidos en esta estructura y son responsables de la síntesis de los otros componentes. La red de proteínas proporciona al tejido sus propiedades físicas, como la rigidez y la elasticidad, siendo la elastina fundamental en este último parámetro [5].

El tejido conectivo de la piel se compone mayoritariamente de colágeno, que es la proteína más abundante en la piel. El colágeno constituye el 70-80% del peso seco de la piel y proporciona a la dermis su integridad mecánica y estructural [6]. Los diversos tipos de colágenos y las estructuras que forman tienen el mismo objetivo, ayudar a los tejidos a soportar estiramientos. Se conocen 19 tipos de colágeno, todos con características individuales que cumplen funciones específicas en diferentes tejidos [7]. Uno de los más importantes es el colágeno tipo I (el más abundante en el cuerpo humano) representando el 80-85% del colágeno dérmico. Las fibrilas de colágeno tipo I presentan una gran fuerza de tracción y resistencia elástica [1, 6].

Las fibras elásticas son elementos insolubles del tejido conectivo que tienen un núcleo central de elastina amorfa, hidrofóbica y entrecruzada rodeada de estructuras fibrilares con un diámetro regular de 10-12 nm, que se conocen como el componente microfibrilar del tejido elástico (Fig. 2). La elastina es una proteína del tejido conectivo bien caracterizada, que es el componente mayoritario de las fibras elásticas. Aunque, la elastina se encuentra en menor cantidad que el colágeno en la dermis, es crucial para la elasticidad de la piel. La elastina se

sintetiza inicialmente como un polipéptido que se enlaza a una red de fibras a través de la formación de desmosinas, que son compuestos entrecruzados que no se encuentran en otras proteínas de mamíferos. Durante el desarrollo embrionario, la mayoría de las fibras elásticas consisten en microfibrilas, que forman un esqueleto en el que se deposita la elastina. En los tejidos elásticos maduros y totalmente desarrollados, más del 90% del total consiste en elastina [4, 6].

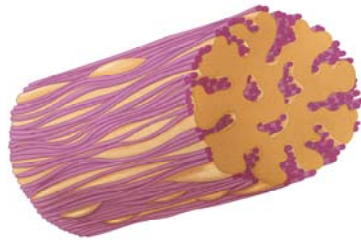


Fig. 2. Núcleo de elastina rodeado de estructuras fibrilares.

La piel envejecida naturalmente muestra atrofia de la MEC con disminución de elastina y desintegración de fibras elásticas [4]. Además, la unión dermo-epidérmica se vuelve más plana, disminuyendo su resistencia mecánica [6]. Se produce también una reducción en la cantidad de microfibrilas periféricas. La superficie de la fibra se vuelve irregular y granular, las microfibrilas son más gruesas, y hay una reducción en el número de glicosaminoglicanos y fibroblastos [5]. Una característica importante de la piel madura es la disminución de la síntesis de colágeno y un aumento de la degradación, resultando en daño en el tejido conectivo, y pérdida de la integridad tridimensional de la piel [8]. La reducción de la síntesis de colágeno tipo I y III es característica de las pieles cronológicamente envejecidas [9].

El proceso natural de envejecimiento y los ataques ambientales contribuyen a la generación de ROS (especies reactivas de oxígeno) estimulando el proceso inflamatorio de la piel y activando los factores de transcripción que regulan la degradación proteolítica de la MEC. En respuesta a la producción inducida por UV de citoquinas pro-inflamatorias, células fagocíticas como neutrófilos y monocitos desde los capilares se infiltran en la piel. Además de los queratinocitos, las mismas células fagocíticas secretan citoquinas que más adelante aumentarán el reclutamiento de células inflamatorias. Asimismo, los neutrófilos liberan elastasas y otras proteasas que pueden causar inflamación, y activación de las metaloproteasas de matriz (MMPs) conocidas por degradar las fibras de colágeno [2].

El daño a los tejidos conectivos es una complicación importante de la respuesta inflamatoria. Las fibras elásticas son degradadas por varios tipos de enzimas, como la elastasa de neutrófilo liberada durante la infiltración de neutrófilos de la epidermis, la MMP-12 derivada de los macrófagos, y la elastasa de fibroblasto de la piel producida en los fibroblastos [2, 10].

La radiación UV induce tanto la elastasa de neutrófilo como la de fibroblasto de la piel. La elastasa de neutrófilo es capaz de degradar rápidamente las microfibrilas intactas, y su inhibición ha demostrado prevenir la formación de arrugas inducidas por UV. La secreción y activación de la elastasa de fibroblasto de la piel se cree que es responsable de la degeneración

de la estructura 3-D de las fibras elásticas durante la formación de las arrugas [2, 4, 10].

La inflamación, la radiación UV y el proceso normal de envejecimiento pueden activar las MMPs conllevando un aumento de la degradación de la matriz. Las MMPs son un grupo de endopeptidasas zinc-dependientes capaces de degradar los componentes de la MEC y están involucrados en la renovación y remodelación de la dermis. En la piel normal, las MMPs se expresan en niveles muy bajos y se mantienen en su forma inactiva ligados a inhibidores endógenos [2]. La metaloelastasa de macrófago (HME, MMP-12) es la MMP más activa contra la elastina en base molar, y posee una amplia especificidad de sustrato, siendo capaz de degradar también colágeno tipo IV, el cual es el componente estructural más abundante en las membranas basales [11]. Por otra parte, la MMP-1 inicia la escisión del colágeno tipo I y II en la dermis, que más adelante son degradados por la MMP-2 y -9 [2].

Los inhibidores específicos de proteasas, inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMPs) y la antileucoproteína (elafina), regulan las actividades de las MMPs y la elastasa [12]. Las células de la piel producen varias clases de TIMPs que son proteínas de bajo peso molecular. La radiación UV multiplica la inducción de la transcripción de MMPs por cinco veces, sin embargo la expresión de TIMPs se ve poco o nada alterada. Las células fagocíticas inducen la síntesis y secreción de elafina en los queratinocitos, inhibidor de la elastasa de neutrófilo humana, que finalmente limita el daño causado por los neutrófilos inflamatorios en la piel [2].

Un aumento de la actividad de las elastasas y una elastogénesis más lenta resultan en una pérdida de elasticidad reflejándose en una piel flácida y arrugada. La estimulación de los fibroblastos dérmicos no sólo induce la producción de elastina sino también regula al alza las enzimas elastóticas que rápidamente degradan la nueva elastina y las fibras elásticas ya existentes. En consecuencia, hay una necesidad de proteger las fibras elásticas ya existentes y las nuevas de la proteólisis enzimática prematura para mantener una piel firme, elástica y sin arrugas [13].

RELISTASE™ es un nuevo tetrapéptido para aplicaciones cosméticas que potencia la elasticidad y la firmeza de la piel, que fue identificado por química combinatoria de una quimioteca de 331776 péptidos. Se cribó la quimioteca monitorizando la fluorescencia de elastina con extinción de fluorescencia (quenched) liberada cuando es digerida por elastasa, para evaluar el potencial inhibidor de los péptidos de la actividad de la enzima elastasa.

RELISTASE™ inhibe el exceso de actividad de elastasa, ayudando a mejorar la pérdida de elasticidad debida al proceso normal de envejecimiento o por factores extrínsecos como la excesiva exposición al sol o la polución ambiental entre otras causas. Reduciendo el exceso de actividad de la elastasa, RELISTASE™ ayuda a proteger la elastina y otros componentes de la MEC que son susceptibles de ser degradados por estas enzimas, resultando en una piel floja, flácida y arrugada. El tetrapéptido también presenta propiedades potenciadoras de colágeno favoreciendo la mejoría del tejido conectivo y ayudando a restaurar la integridad 3-D de la piel aumentando la resistencia a la tracción y elástica.

La prevención y mejora de la elasticidad de la piel del cuerpo junto con un efecto potenciador del colágeno, ayuda a conseguir una piel más firme, elástica y joven.

Propiedades cosméticas

RELISTASE™:

- es un activo de Cosmética Molecular que realza la elasticidad y la firmeza de la piel especialmente en pieles maduras
- ayuda a proteger la elastina inhibiendo la actividad de la elastasa de neutrófilo humana
- mejora la firmeza y la elasticidad de la piel del cuerpo en general tal y como demostró *in vivo*
- favorece la restauración de la integridad tridimensional de la piel y mejora el tejido conectivo gracias a sus excelentes propiedades de estimulación del colágeno que mostró *in vitro*

Eficacia *in vitro*

PROTECCIÓN DE LA ELASTINA DE LA ELASTASA PANCREÁTICA PORCINA

La fluorescencia liberada por la elastina con extinción de fluorescencia cuando es digerida por la elastasa pancreática porcina, fue evaluada a fin de estudiar la inhibición dosis-respuesta de la elastasa pancreática porcina por RELISTASE™.

Muestras de concentraciones 1, 10 y 50 μM fueron preincubadas con proteasa reconstituida en tampón de reacción (0,4 unidades/mL de elastasa pancreática porcina) durante una hora a temperatura ambiente. Después de la preincubación, se añadieron 25 μL del sustrato (DQ™ Elastin) y se incubaron las muestras en un lugar oscuro durante 2 horas a temperatura ambiente. Se leyó la fluorescencia liberada tras la digestión de la elastina marcada en un lector de multiplacas de fluorescencia: excitación a 485 nm y detección a 530 nm. Se corrigieron los resultados obtenidos de la fluorescencia basal emitida sin elastasa ni elementos a ensayar, y fueron normalizados respecto a la fluorescencia liberada en un experimento sin elementos a ensayar (control negativo).

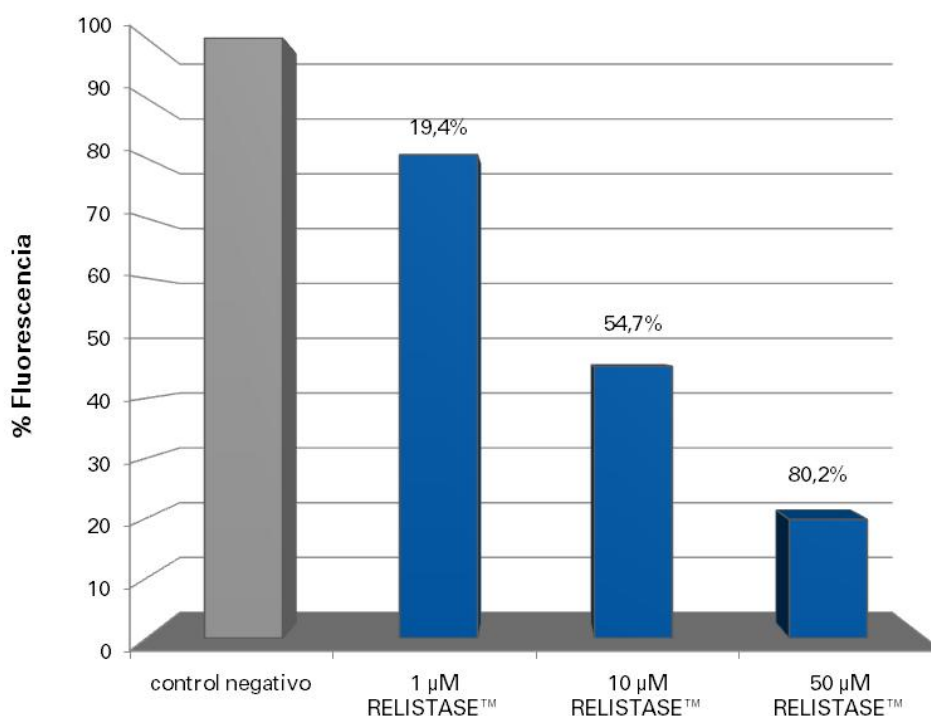


Fig. 3. Porcentaje de inhibición de la actividad de la elastasa por RELISTASE™ a 1, 10 y 50 μM . Los datos mostrados son una media.

En las condiciones experimentales, RELISTASE™ demostró ser capaz de proteger la elastina inhibiendo la actividad de la elastasa pancreática porcina de manera dosis-dependiente, mostrando una inhibición del 80,2% a 50 μM .

INHIBICIÓN DE LA ELASTASA DE NEUTRÓFILO HUMANO

La fluorescencia liberada por el sustrato fluorogénico elastasa V (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-aminometilcumarina) cuando es digerido por la elastasa de neutrófilo humano, fue monitorizada para estudiar la inhibición dosis-respuesta de la elastasa de neutrófilo humano por RELISTASE™.

Muestras de concentraciones 50, 100 y 500 µM fueron preincubadas con 0,2 µg/mL elastasa de neutrófilo humana en tampón de reacción durante una hora a temperatura ambiente. Después de la preincubación, se añadió el sustrato fluorogénico a los pocillos y se incubaron las muestras en un lugar oscuro durante 2 horas a temperatura ambiente. La hidrólisis del sustrato fluorogénico elastasa V fue monitorizada en un lector de multiplacas de fluorescencia con un filtro de excitación de 370 nm y uno de emisión de 460 nm. Se corrigieron los resultados obtenidos de la fluorescencia basal emitida sin elastasa ni elementos a ensayar, y fueron normalizados respecto a la fluorescencia liberada en un experimento sin elementos a ensayar (control negativo).

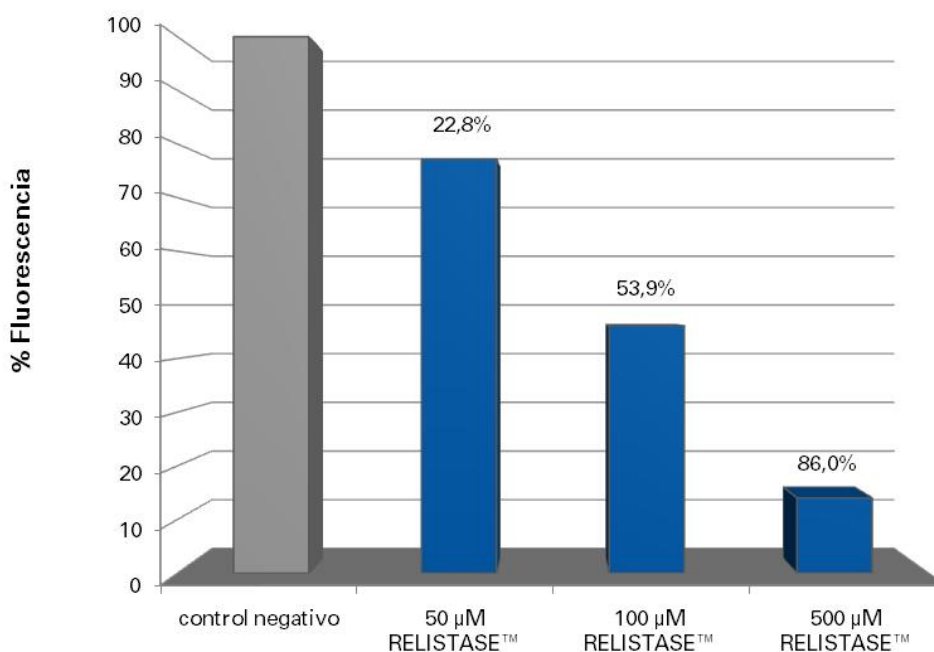


Fig. 4. Porcentaje de inhibición de la actividad de la elastasa de neutrófilo humano por RELISTASE™ a 50, 100 y 500 µM. Los datos mostrados son una media.

RELISTASE™ demostró ser capaz de inhibir la elastasa de neutrófilo humano de manera dosis-respuesta, mostrando una inhibición de la elastasa del 86% a 500 µM.

EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN DE COLÁGENO TIPO I EN FIBROBLASTOS DÉRMICOS HUMANOS

La inducción de colágeno por RELISTASE™ fue evaluada con un ensayo ELISA. El colágeno tipo I del medio de cultivo se enganchó a la parte inferior del pocillo. Se detectó con un anticuerpo anti-colágeno tipo I. Se reconoció este anticuerpo con un anticuerpo secundario marcado. Se cuantificó el ensayo midiendo la cantidad de anticuerpo marcado ligado a la matriz, usando un sustrato colorimétrico. La peroxidasa marcada al anticuerpo secundario convierte el sustrato incoloro (OPD) en un producto coloreado. Este color se midió y es proporcional a la cantidad de colágeno tipo I presente en la muestra.

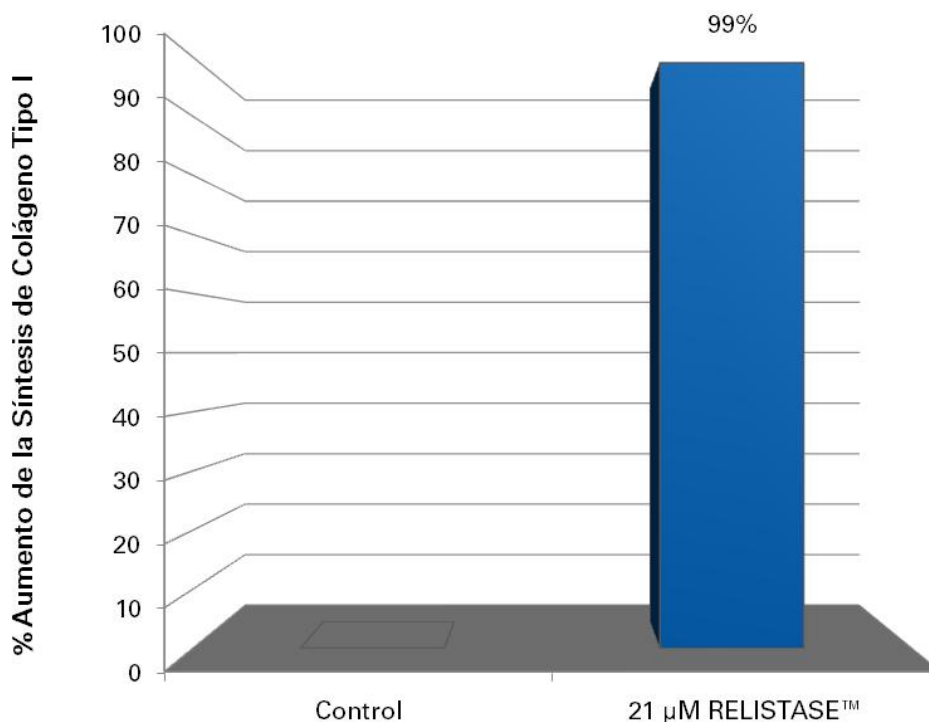


Fig. 5. Aumento de la síntesis de colágeno tipo I inducido por 21 µM RELISTASE™ respecto a células no tratadas.

RELISTASE™ probó aumentar un 99% la inducción de la síntesis de colágeno tipo I en cultivos de células de fibroblastos dérmicos a 21 µM.

Eficacia *in vivo*

EVALUACIÓN DE LA ELASTICIDAD Y DE LA FIRMEZA CUTÁNEAS

Un panel de 20 voluntarias (edad media 49 años) se aplicó una crema que contenía un 4% RELISTASE™ SOLUTION o una crema placebo en los muslos dos veces al día durante 8 semanas.

La elasticidad de la piel se determinó con un Cutometer® SEM 575, Courage & Khazaka, el cual mide la deformación vertical de la piel cuando es succionada. Se calculó la media de los valores y las desviaciones estándares para T0, T4 y T8. Los datos instrumentales y las variaciones se compararon estadísticamente mediante una prueba t de Student. Las diferencias se consideraron significantes cuando la probabilidad p era $\leq 0,05$.

La crema que contenía 4% RELISTASE™ SOLUTION mostró una mejoría altamente significativa de la elasticidad global del 11,7% y 14% después de 4 y 8 semanas respectivamente. No se detectó ninguna variación estadísticamente significativa en los valores del área tratada con la crema placebo.

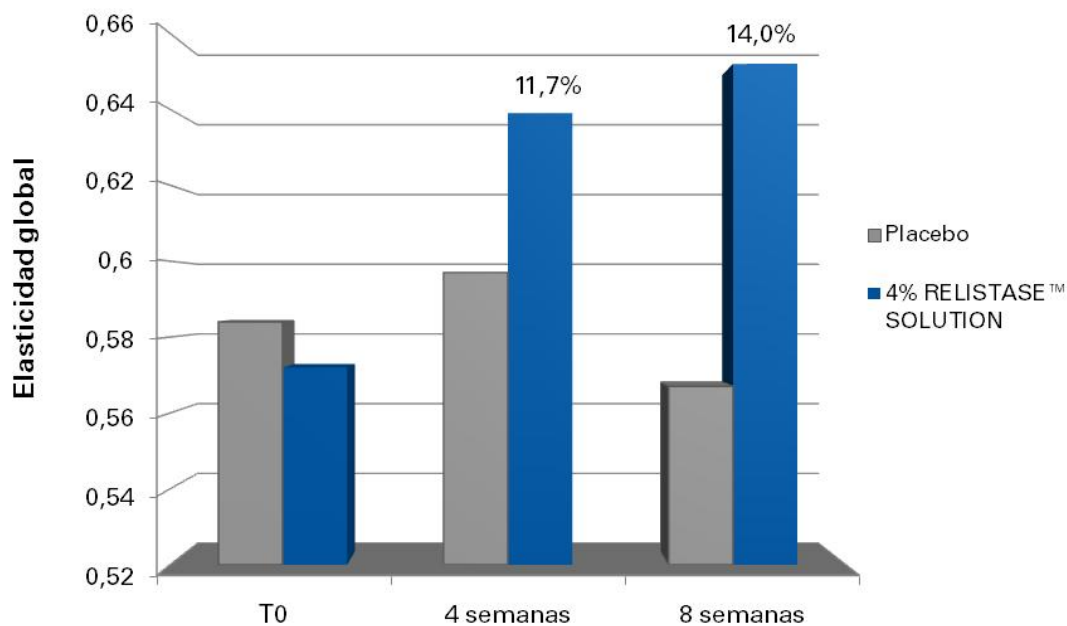


Fig. 6. Elasticidad global de la piel después de aplicar una crema que contenía 4% RELISTASE™ SOLUTION o un placebo.

El área tratada con la crema que contenía 4% RELISTASE™ SOLUTION mostró una reducción altamente significativa de la deformación máxima del -5,5% y -15,6% después de 4 y 8 semanas de tratamiento. Sin embargo, no se detectó ninguna variación significativa en los valores del área tratada con placebo.

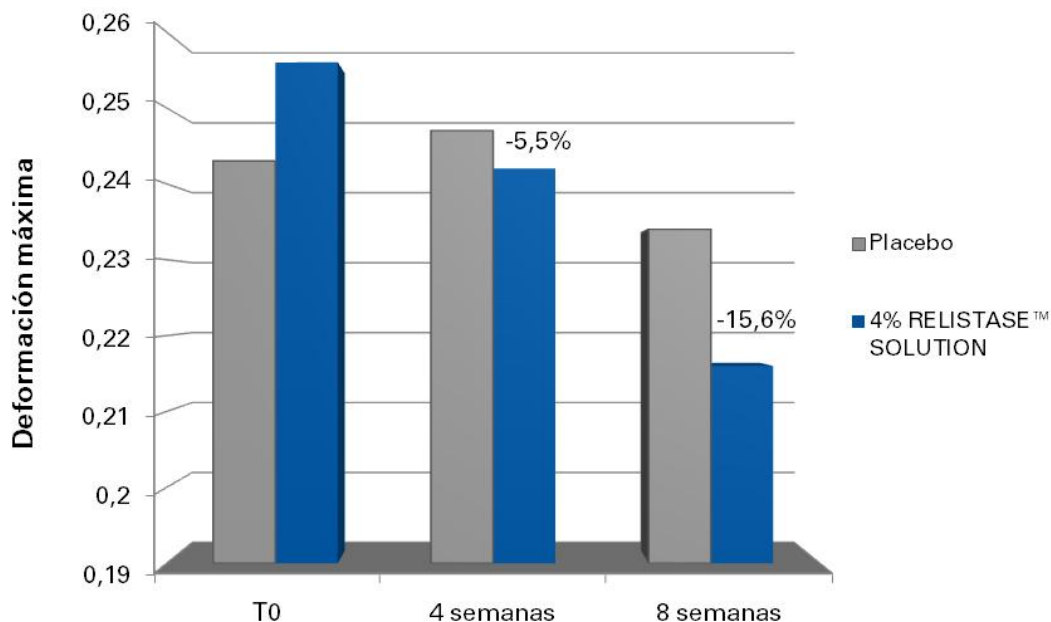


Fig. 7. Deformación máxima de la piel después de aplicar una crema que contenía un 4% RELISTASE™ SOLUTION o un placebo.

RELISTASE™ mostró mejorar de manera altamente significativa, la deformación máxima y la elasticidad global en un -15,6% y 14% respectivamente en las condiciones de ensayo.

A la luz de los resultados, puede concluirse que RELISTASE™ es un buen ingrediente activo cosmético que ayuda a mejorar la elasticidad y la firmeza de la piel.

Toxicidad

El perfil toxicológico de RELISTASE™ para aplicaciones cosméticas fue determinado *in vitro* y *in vivo*. Un dossier toxicológico completo y un resumen de todos los ensayos realizados están disponibles a petición del cliente.

ENSAYOS *IN VITRO*

Ensayo de citotoxicidad en queratinocitos epidérmicos humanos

No se observaron signos de citotoxicidad a las concentraciones ensayadas.

Ensayo de citotoxicidad en fibroblastos 3T3

No se observaron signos de citotoxicidad a las concentraciones ensayadas.

Irritación ocular (ensayo HET-CAM)

De acuerdo con los resultados del ensayo HET-CAM, RELISTASE™ presentó una ligera irritación ocular.

Ensayo de fototoxicidad NRU

No se observaron signos de fototoxicidad a las concentraciones ensayadas.

Ensayo de mutación bacteriana reversa (Ames test)

El producto no mostró actividad mutagénica ni promutagénica en ninguna de las cinco cepas utilizadas.

ENSAYOS *IN VIVO*

Sensibilización y compatibilidad cutánea

Se realizó un HRIPT (Human Repeated Insult Patch Test) sobre 101 voluntarios de edades comprendidas entre los 19 y los 70 años. RELISTASE™ al 0,05% no provocó ninguna reacción de irritación primaria o acumulativa, ni ninguna sensibilización cutánea

Datos técnicos

PRESENTACIÓN

Solución que contiene un 0,01% de ingrediente activo.

Nombre comercial	RELISTASE™ SOLUTION
Código	PD170

INGREDIENTES

Nombre INCI	CAS No	EINECS No
GLYCERIN	56-81-5	200-289-5
ACETYLRGINYLTRYPTOPHYL DIPHENYLGLYCINE	-	-

ESPECIFICACIONES

Aspecto:	Solución transparente
Color:	Incoloro a amarillo
Densidad:	1,20 – 1,30 g/mL
Índice de refracción:	1,447 – 1,487

DOSIS

Se recomienda una dosis del 4% RELISTASE™ SOLUTION en formulaciones cosméticas finales.

PROCESADO

RELISTASE™ SOLUTION puede incorporarse en la etapa final del proceso de fabricación, teniendo en cuenta que la temperatura se mantiene entre 35°C – 40°C.

El pH de la formulación final debería estar entre 5,0 y 7,0.

INCOMPATIBILIDADES

Oxidantes fuertes.

SOLUBILIDAD

RELISTASE™ SOLUTION es soluble en agua.

ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD

RELISTASE™ SOLUTION debe mantenerse en un sitio limpio, fresco y oscuro. Si se almacena en estas condiciones permanece estable durante al menos 18 meses.

FORMULACIÓN

RELISTASE™ SOLUTION puede incorporarse en todo tipo de formulaciones cosméticas para el cuidado de la piel en las que desee un efecto potenciador de la elasticidad y la firmeza.

Firming Cream for Mature Skin

PROPIEDADES

pH = 5,5 – 7,0

Viscosidad = 80000 – 120000

cps (6/5,0)

PROCEDIMIENTO

Mezclar la fase A en un recipiente adecuado. Añadir la fase A1 bajo agitación y calentar a 70°C. Pesar la fase B en otro recipiente y disolver mientras se calienta a 80°C. Verter la primera mezcla en la fase B. dejar enfriar a 50°C y añadir las fases C y D bajo agitación. Ajustar el pH con la fase E.

FASE	INGREDIENTES	% EN PESO
A	WATER (AQUA)	c.s.p 100
	BUTYLENE GLYCOL	3
	PENTYLENE GLYCOL	2,5
	GLYCERIN	5
	PHENOXYETHANOL, METHYLPARABEN, ETHYLPARABEN, BUTYLPARABEN, PROPYLPARABEN, ISOBUTYLPARABEN	0,8
	IMIDAZOLIDINYL UREA	0,2
	DISODIUM EDTA	0,3
A1	SODIUM POLYACRYLATE, WATER (AQUA)	0,3
B	PROPYLENE GLYCOL DICAPRYLATE/DICAPRATE	3
	SHEA BUTTER (BUTYROSPERMUM PARKII)	4
	MALTOOLIGOSYL GLUCOSIDE, HYDROGENATED STARCH HYDROLYSATE, WATER (AQUA)	5
	MINERAL OIL (PARAFFINUM LIQUIDUM)	2
	TRIETHYLHEXANOIN	2
	GLYCERYL STEARATE, BEHENYL ALCOHOL, GLYCERYL STEARATE CITRATE, DISODIUM ETHYLENE DICOCAMIDE	3
	PEG-15 DISULFATE	
	CETEARETH-25	2
	STEARYL ALCOHOL	2
	CETEARYL ALCOHOL	2
GLYCERYL STEARATE, PEG-100 STEARATE	2	
C	DIMETHICONE	2
	RELISTASE™ SOLUTION (código PD170)	4
	SERILESINE® (código PD060)	5
	DECORINYL® (código PD090)	5
D	FRAGRANCE (PARFUM)	0,2
E	SODIUM HYDROXIDE (20% en solución acuosa)	c.s.

Referencias

1. Pons Gimier L, Parra Juez JL. Ciencia Cosmética. Bases fisiológicas y criterios prácticos. *Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos*. 1995.
2. Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation - a review. *Int J Cosmet Sci*. 27(1): 17-34, 2005.
3. Brincat MP. Oestrogens and the skin. *J Cosmet Dermatol*. 3(1): 41-49, 2004.
4. Watson RE, Griffiths CE, Craven NM, Shuttleworth CA, Kielty CM. Fibrillin-rich microfibrils are reduced in photoaged skin. Distribution at the dermal-epidermal junction. *J Invest Dermatol*. 112(5): 782-787, 1999.
5. Benaiges A, Marcet P, Armengol R, Betes C, Gironés E. Study of the refirming effect of a plant complex. *Int J Cosmet Sci*. 20(4): 223-233, 1998.
6. Oikarinen A. Aging of the skin connective tissue: how to measure the biochemical and mechanical properties of aging dermis. Review. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 10(2): 47-52, 1994.
7. Culav EM et al. Connective tissues: matrix composition and its relevance to physical therapy. *Phys Ther*. 79: 308-319, 1999.
8. Bernstein EF et al. Long-term sun exposure alters the collagen of the papillary dermis. *J Am Acad Dermatol*. 34: 209-218, 1996.
9. Varani J et al. Decreased collagen production in chronologically aged skin: roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. *Am J Pathol*. 168(6): 1861-1868, 2006.
10. Tsukahara K, Takema Y, Moriwaki S, Tsuji N, Suzuki Y, Fujimura T, Imokawa G. Selective inhibition of skin fibroblast elastase elicits a concentration-dependent prevention of ultraviolet B-induced wrinkle formation. *J Invest Dermatol*. 117(3): 671-677, 2001. Erratum in: *J Invest Dermatol*. 118(4): 742, 2002.

11. Saarialho-Kere U, Kerkelä E, Jeskanen L, Hasan T, Pierce R, Starcher B, Raudasoja R, Ranki A, Oikarinen A, Vaalamo M. Accumulation of matrilysin (MMP-7) and macrophage metalloelastase (MMP-12) in actinic damage. *J Invest Dermatol.* 113(4): 664-672, 1999.
12. Muto J, Kuroda K, Wachi H, Hirose S, Tajima S. Accumulation of elafin in actinic elastosis of sun-damaged skin: elafin binds to elastin and prevents elastolytic degradation. *J Invest Dermatol.* 127(6): 1358-1366, 2007.
13. Jimenez F, Mitts TF, Liu K, Wang Y, Hinek A. Ellagic and tannic acids protect newly synthesized elastic fibers from premature enzymatic degradation in dermal fibroblast cultures. *J Invest Dermatol.* 126(6): 1272-1280, 2006.

Nota: Los gráficos y las fotografías que aparecen en este documento pueden ser utilizados por nuestros clientes si el producto final contiene la misma concentración de activo que la que figura en nuestros tests. Debe solicitarse permiso escrito para la utilización del material gráfico y de las marcas de Lipotec. Es responsabilidad del cliente el cumplimiento de las normativas referentes a la publicidad, tanto locales como internacionales.

Lipotec utiliza el símbolo ™ cuando solicita una marca europea. El símbolo cambia a ® cuando la marca europea es concedida. La situación particular de la marca en cada país puede variar y se recomienda que nos contacten para obtener información actualizada.

Responsabilidades:

La información y datos incluidos en esta publicación están presentados en la consideración de su fiabilidad, de modo gratuito y siendo su finalidad meramente informativa, sin que presenten garantías de ninguna clase. Queda excluida cualquier garantía expresa o implícita. El receptor es únicamente responsable de asegurar que los productos comercializados para los consumidores cumplen con todas las leyes pertinentes y normativas aplicables. LIPOTEC es el titular exclusivo de los derechos de propiedad intelectual e industrial recogidos en la presente. El receptor de esta publicación acepta indemnizar y eximir de responsabilidad a todas y cada una de las entidades integrantes de la organización de LIPOTEC por todas y cada una de las acciones legales que se deriven del uso por parte del receptor de cualquier afirmación o información contenida en esta publicación, incluyendo, sin excluir, el uso de la misma en publicidad, datos contenidos en la etiqueta del producto final, y no utilizará esta publicación como prueba que justifique una reclamación de producto final ante cualquier autoridad legal.