



***Активные ингредиенты компании CLR
(Германия) для антивозрастной косметики.***

***Стимулирование регенерации эпидермиса с
помощью лизата пробиотика
ProRenew Complex CLR™***

Куценко Илья, 17.09.2015





InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Краткая презентация ООО «Индел»

- Основание компании ООО «Индел» в Одессе в 2010г.
- Небольшая, но быстро развивающаяся компания на регулируемых рынках (фарма и косметика)



Миссия

Содействие повышению конкуренции отечественных промышленных предприятий, предоставляя оптимальные решения для производства фармацевтических препаратов и косметических средств.





Наши партнеры - косметика

infinitec
BARCELONA



И многие другие...



Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH (CLR).
Инновационные и высококачественные активные ингредиенты для
ухода за кожей и волосами с 50-х гг.



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Ингредиенты CLR для различных классов косметики



Антивозрастные ингредиенты CLR

<u>Ингредиент</u>	<u>Преимущества/функции</u>
MPC™ – Комплекс пептидов молока INCI: Whey Protein	Индуцирует биосинтез компонентов внеклеточного матрикса: гиалуроновая кислота, коллаген I, фибронектин
Repair Complex CLR™ PF INCI: Bifida Ferment Lysate	Стимулирует натуральные механизмы восстановления ДНК после воздействия ультрафиолета (выработка IL12 и др.)
Phytosan™ K INCI: Water, Glycerine, Glycine Soja (Soybean) Seed Extract	Защищает кожу от потери энергии, вызванной УФ-излучением и стимулирует регенерацию кожи
Phytodermin™ K INCI: Glycine Soja (Soybean) Protein	Восстановление физиологического баланса зрелой кожи и кожи, подверженной различным стрессам
ProRenew Complex CLR™	??????



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

ProRenew Complex CLR™

СТИМУЛИРОВАНИЕ И РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ С ПОМОЩЬЮ ЛИЗАТА ПРОБИОТИКОВ



Эпидермис – наиболее динамичная часть нашего тела

Успешное «обновление кожи»:

- Должны образовываться новые клетки ('пролиферация')
- Клетки должны быть способны завершить процесс дифференцировки

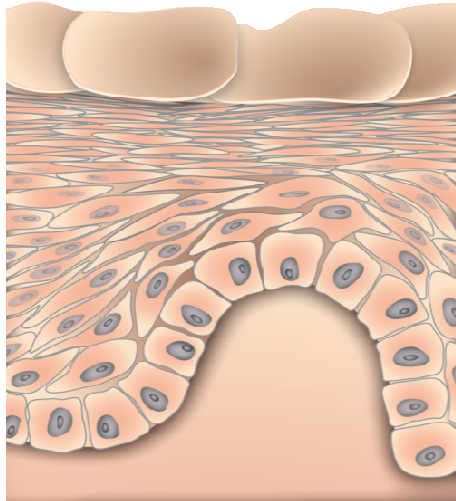
Деликатный баланс



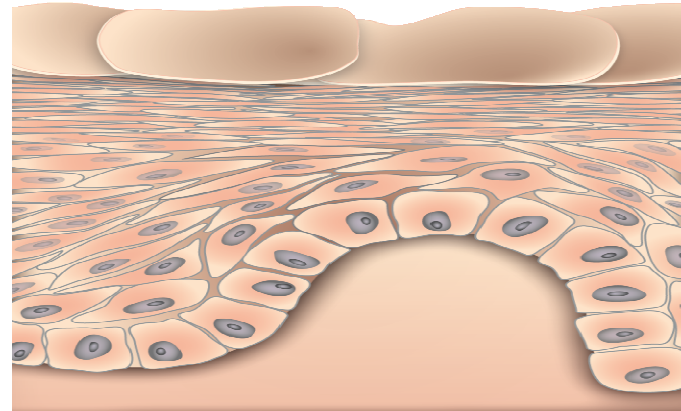


InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Эпидермис увядающей кожи: 'растянутый' и 'замедленный'



Молодой



Стареющий (80+)

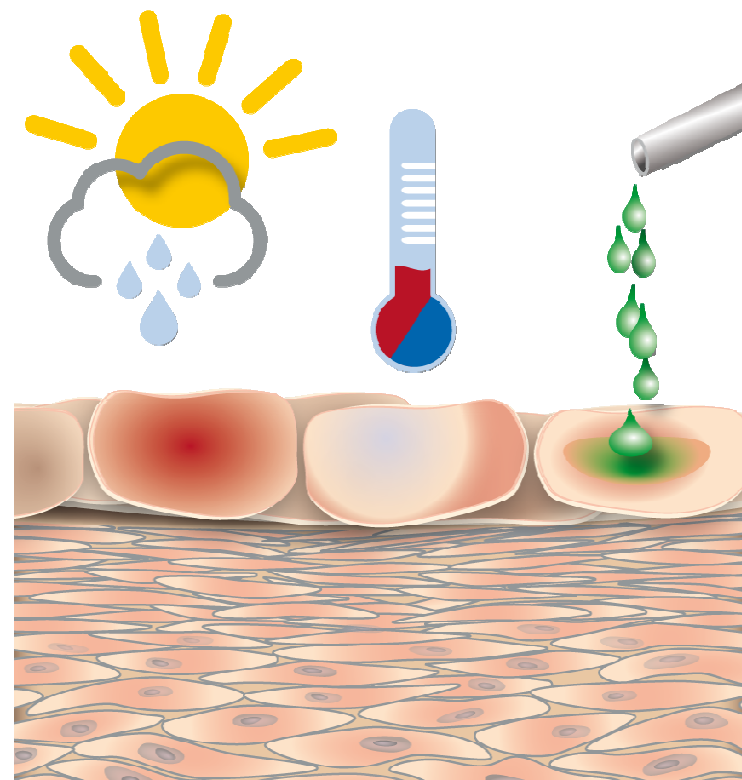
Потеря

- Клеточной функциональности и пролиферативной способности: на 50% медленней у 80-ти летней кожи
- Динамика процессов дифференциации: постаревшая кожа более сухая, как результат низкого содержания НУФ; корнеоциты – больше, но тоньше

Эпидермис увядающей кожи: ‘растянутый’ и ‘замедленный’

Кожа подвержена стрессам, поэтому эпидермис должен адаптироваться:

- Солнечный свет
- Патогенные микробы
- Повседневные гигиенические средства, моющие средства
- Влажность и температура окружающей среды
- Механический стресс
- Опасные химические вещества
- Другие



Эпидермис увядающей кожи: ‘растянутый’ и ‘замедленный’

Потеря способности к адаптации:

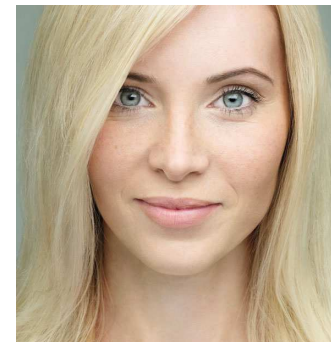
- Снижение иммунокомпетентности
- Способности действовать в качестве ‘биосенсора’
- Снижение способности правильно реагировать на повреждение клетки или на стресс
- Потеря кинетики восстановления барьера





ProRenew Complex CLR™

- Лизаты из *Lactococcus lactis*
- Биотехнологически полученная суспензия из молочнокислых бактерий
- Содержит цитоплазмы и фрагменты клеточной стенки, которые увеличивают иммунокомпетентность клеток кожи



INCI : Lactococcus Ferment Lysate

Процент ввода: 3%

pH-диапазон: 4.0 - 7.0

Консервант: 0.3% Натрия бензоат



ProRenew Complex CLR™



- *Пробиотический антивозрастной подход к обновлению кожи*
- *Стимулирует выработку ключевых компонентов дифференцировки и качества кожи*
- *Улучшается сцепление кератиноцитов*
- *Улучшается выработка антимикробных пептидов*
- *Стимулирует обновление кожи и ускоряет восстановление кожного барьера*

Рекомендации:

Средства «Anti-age», которые направлены на стимулирование процессов регенерации кожи независимо от типа повреждения (повседневного стресса, пилинга или естественного старения).



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

ProRenew Complex CLR™

Обновление кожи и восстановление барьера

Результаты исследований

In vivo



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Обновление кожи и восстановление барьера - Экспериментальный дизайн

На внутренней поверхности предплечья 5 женщинам-волонтерам (47 - 63 лет) наносили исследуемые продукты в течение 2 недель, два раза в день.

После этого был осуществлен соскоб липкой лентой в целях удаления рогового слоя, вызывающее повреждение кожи. Продукты применяли еще два раза в день в течение 4 дней.

Обновление кожи и восстановление барьера были определены путем измерения толщины рогового слоя и ТЭПВ в различные моменты времени после соскоба липкой лентой.

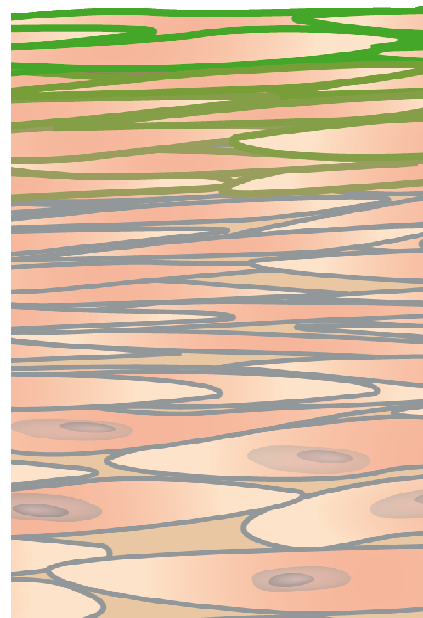
ProRenew Complex CLR™



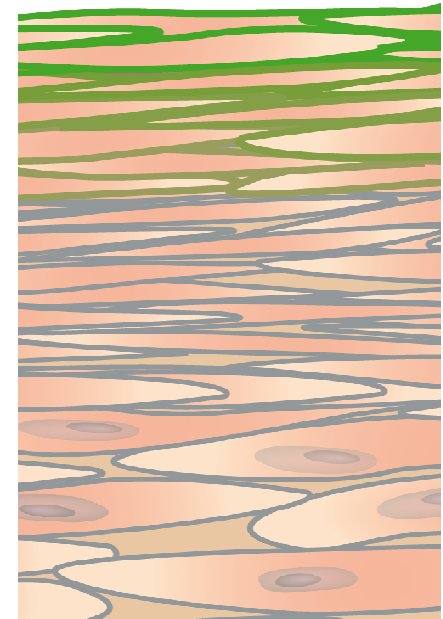
InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Ускорение обновления кожи: конфокальная микроскопия

Удаление верхних слоев
кожи при помощи липкой
ленты



Определение
скорости обновления
кожи



ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Ускорение обновления кожи: конфокальная микроскопия

Принцип: лазерный луч сканирует кожу, затем отражается от различных компонентов клеток кожи. Таким образом могут быть обнаружены различные клеточные структуры.

Клетки зернистого слоя (SG) отличаются по структуре от клеток рогового слоя (SC). Точно фокусируя микроскоп на различной глубине рогового слоя до момента идентификации клеток зернистого слоя, можно определить толщину рогового слоя.



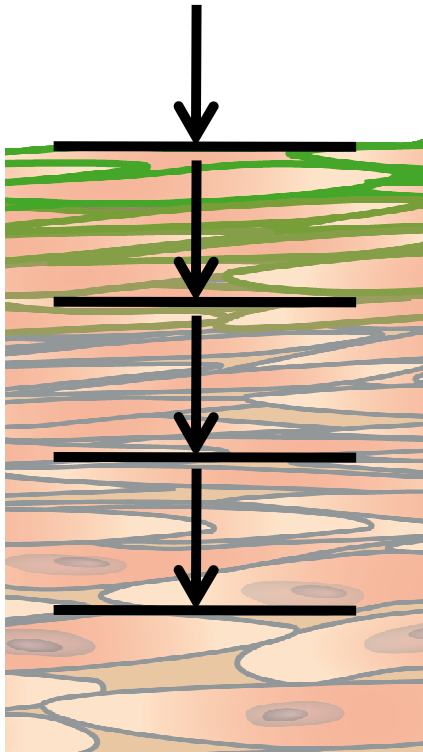
Благодаря компании proDerm GmbH., Гамбург, Германия

ProRenew Complex CLR™

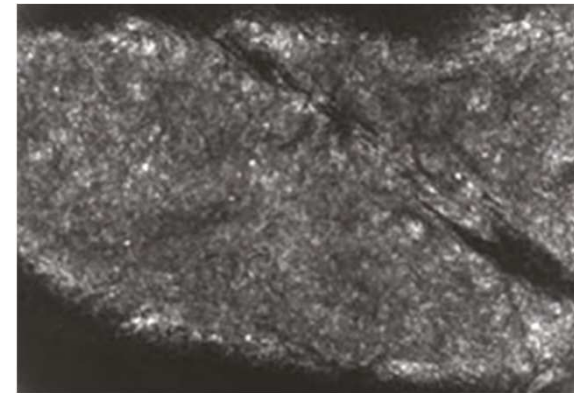


InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

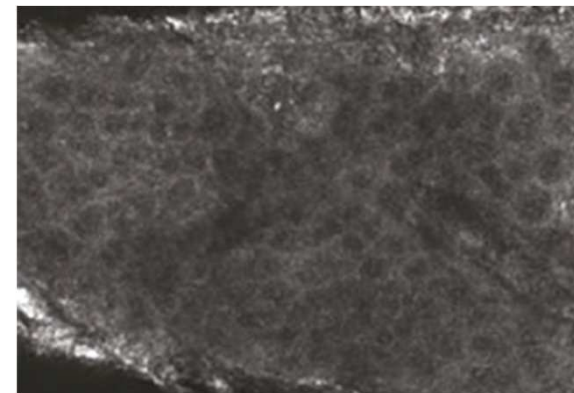
Ускорение обновления кожи: конфокальная микроскопия



Поверхность рогового
слоя (SC):
нет четкой картины



Верхний слой
зернистого слоя: четкий
рисунок (видны ядра
клеток)



ProRenew Complex CLR™



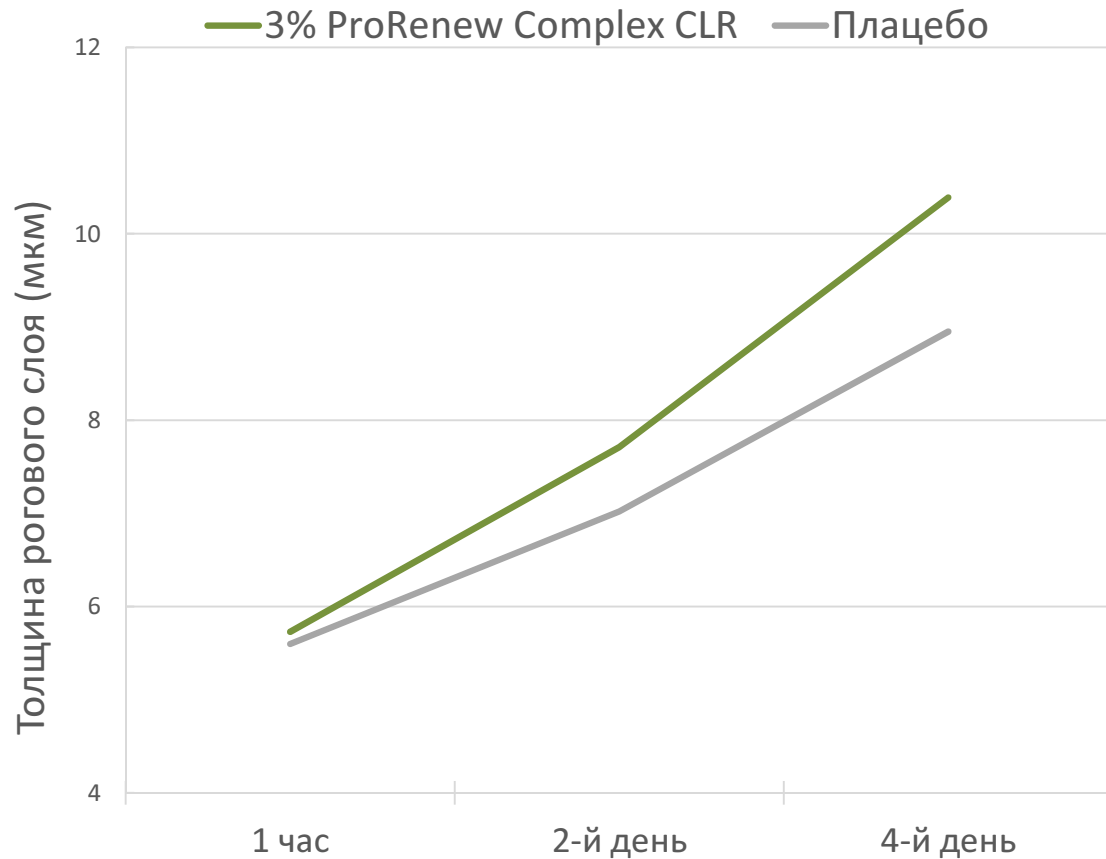
InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Ускорение обновления кожи

SC толщина (мкм)

была определена
толщина рогового слоя
(SC) через один час после
соскоба лентой, через 2 и
4 дня после соскоба

(метод: Vivascope® 1500,
Lucid Inc., Rochester, NY,
USA)



ProRenew Complex CLR™



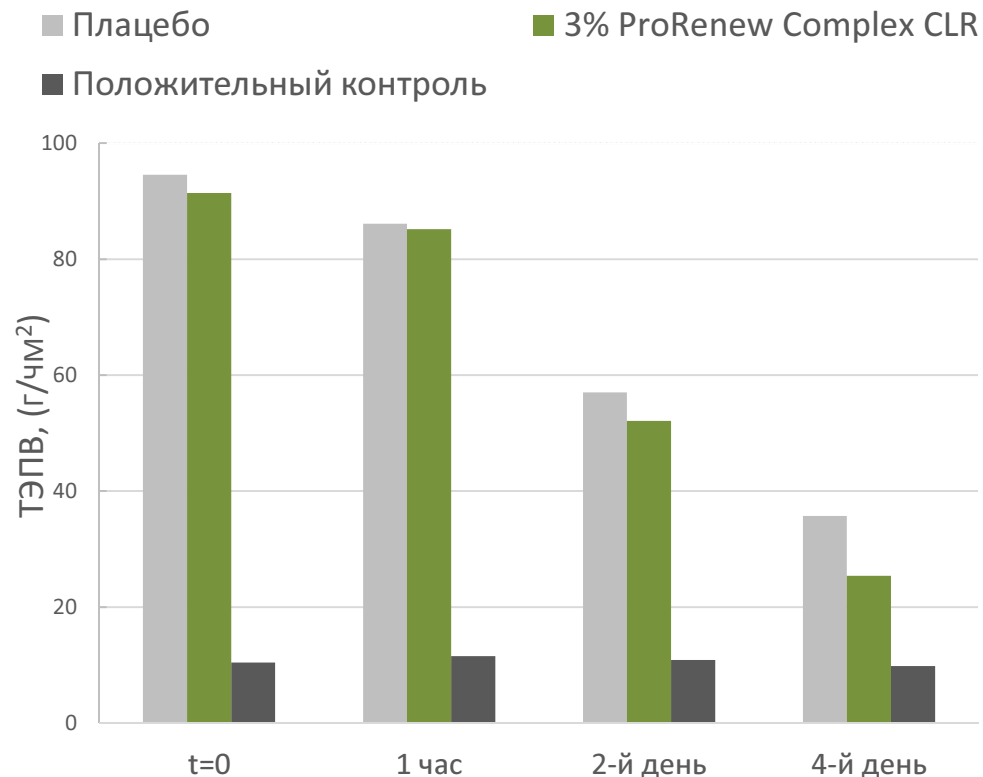
Стимуляция восстановления барьера

ТЭПВ (г/чм²)

ТЭПВ измеряли непосредственно после соскоба (T = 0), через час, 2 и 4 дня после соскоба.

Положительный контроль был определен без соскоба и без применения продукта

(метод: Теваметр ТМ 210, Courage & Khazaka)



ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

ProRenew Complex CLR™

Регуляция экспрессии генов в процессе дифференцировки

*Результаты исследования
in vitro*

Стимуляция экспрессии генов в процессе дифференцировки

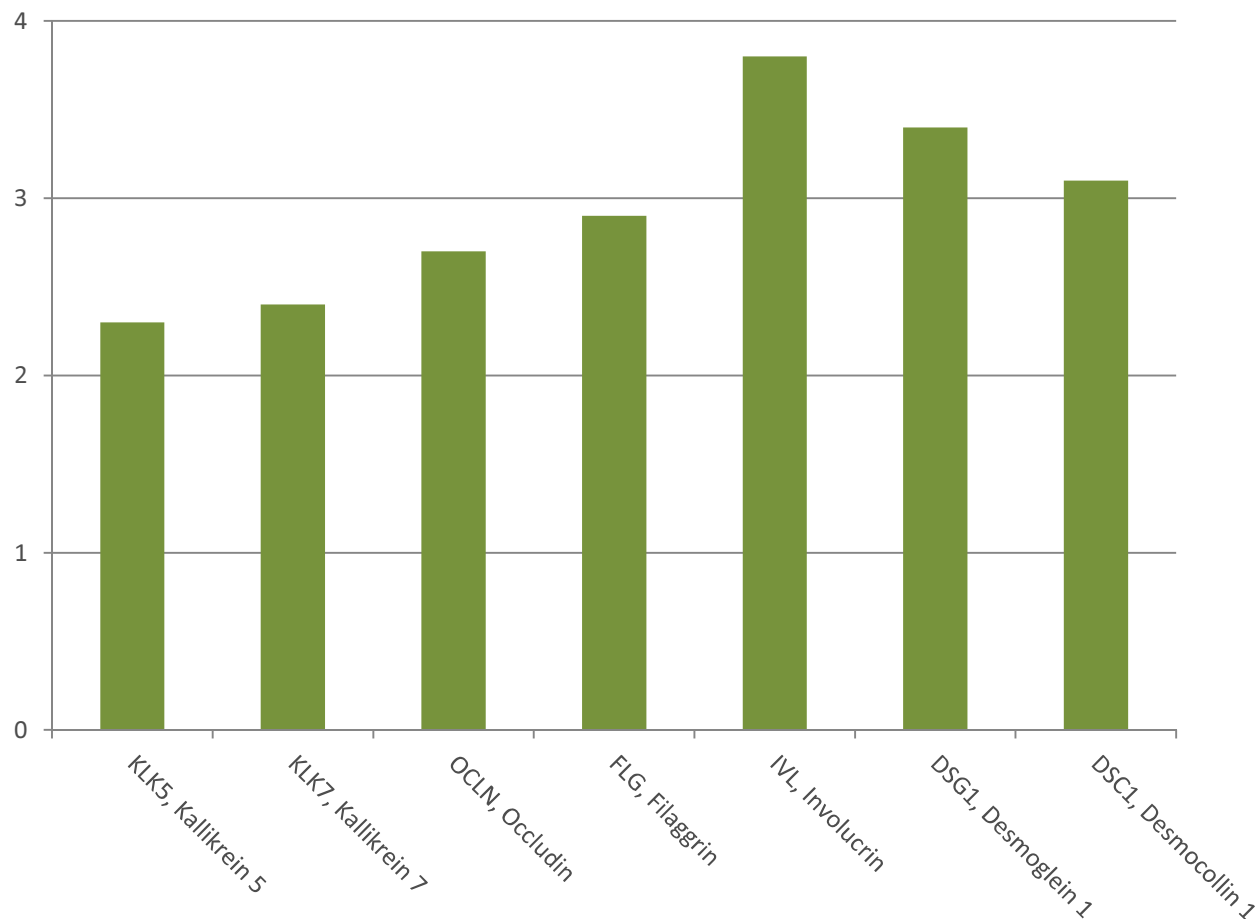
Повышение стимуляции экспрессии генов (кратность изменения)

Человеческие кератиноциты (на стадии предварительного слияния) женщины, европеоида-волонтера (рука), обрабатывались в течение 96 часов 1% ProRenew Complex CLR™.

РНК была экстрагирована с помощью RNeasy protect Midi Kit (Qiagen) и определена благодаря биофотометру (Eppendorf).

ДНК чип был выполнен на приборе Agilent Whole Human Genome Oligo Microarrays chip.

Значения экспрессии связаны с необработанными контрольными клетками.

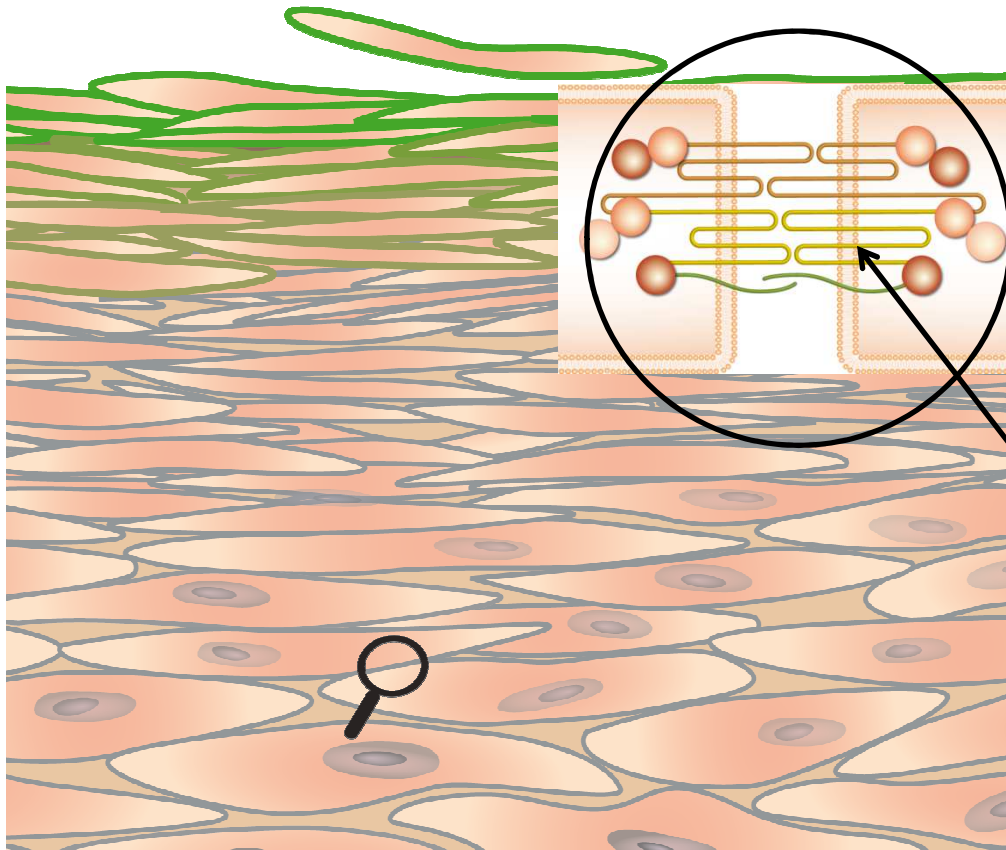


ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Окклюдин – ключевой компонент и регулятор плотных контактов



Плотные контакты (ПК)

- Основная система закрепления между дифференцирующимися кератиноцитами в роговом слое
- Важный элемент барьерной функции кожи, регулирующий проницаемость воды, растворов и патогенов

Окклюдин

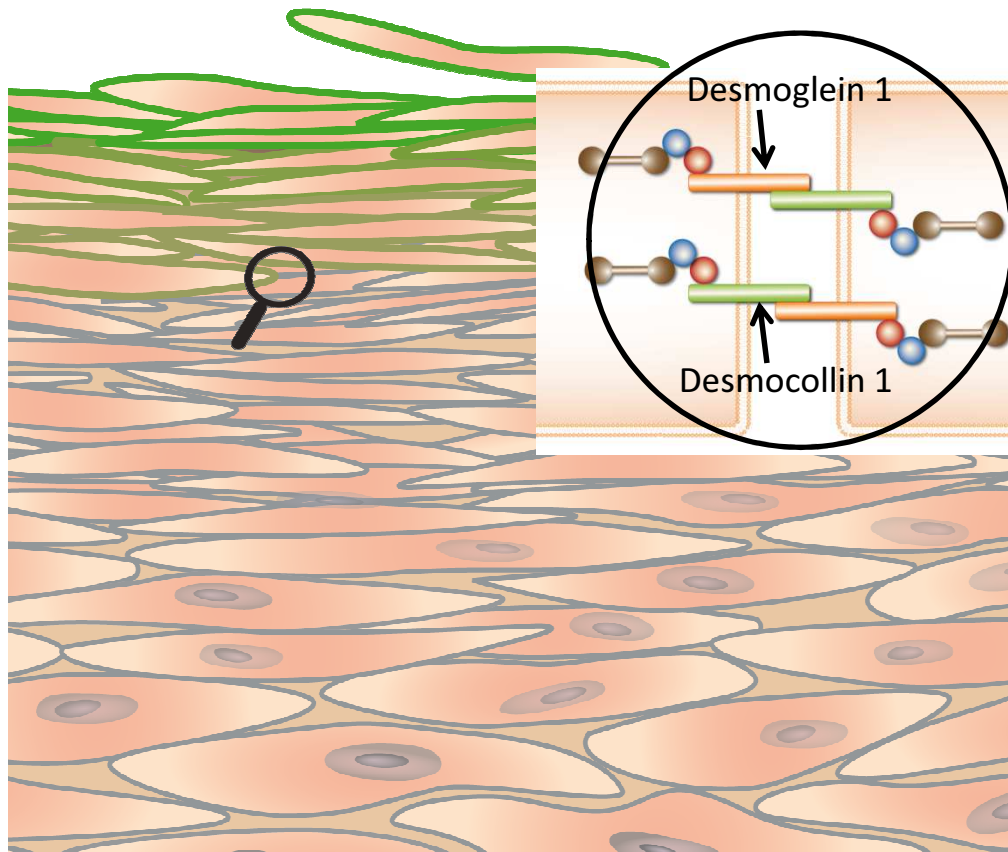
- жизненно необходимый элемент внеклеточной структуры ПК
- действует как «липучка» между клетками
- Это ключевой регулятор в формировании ПК

ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Десмоколлин 1 и Десмоглеин 1: ключевые компоненты корнеодесмосом



Корнеодесмосомы

- Обеспечивают плотное скрепление корнеоцитов между собой
- Важная роль в структуре рогового слоя

Десмоколин 1 и Десмоглеин 1

- жизненно необходимые составляющие внеклеточной структуры корнеодесмосом
- действуют как "липучка", соединяющая соседние клетки

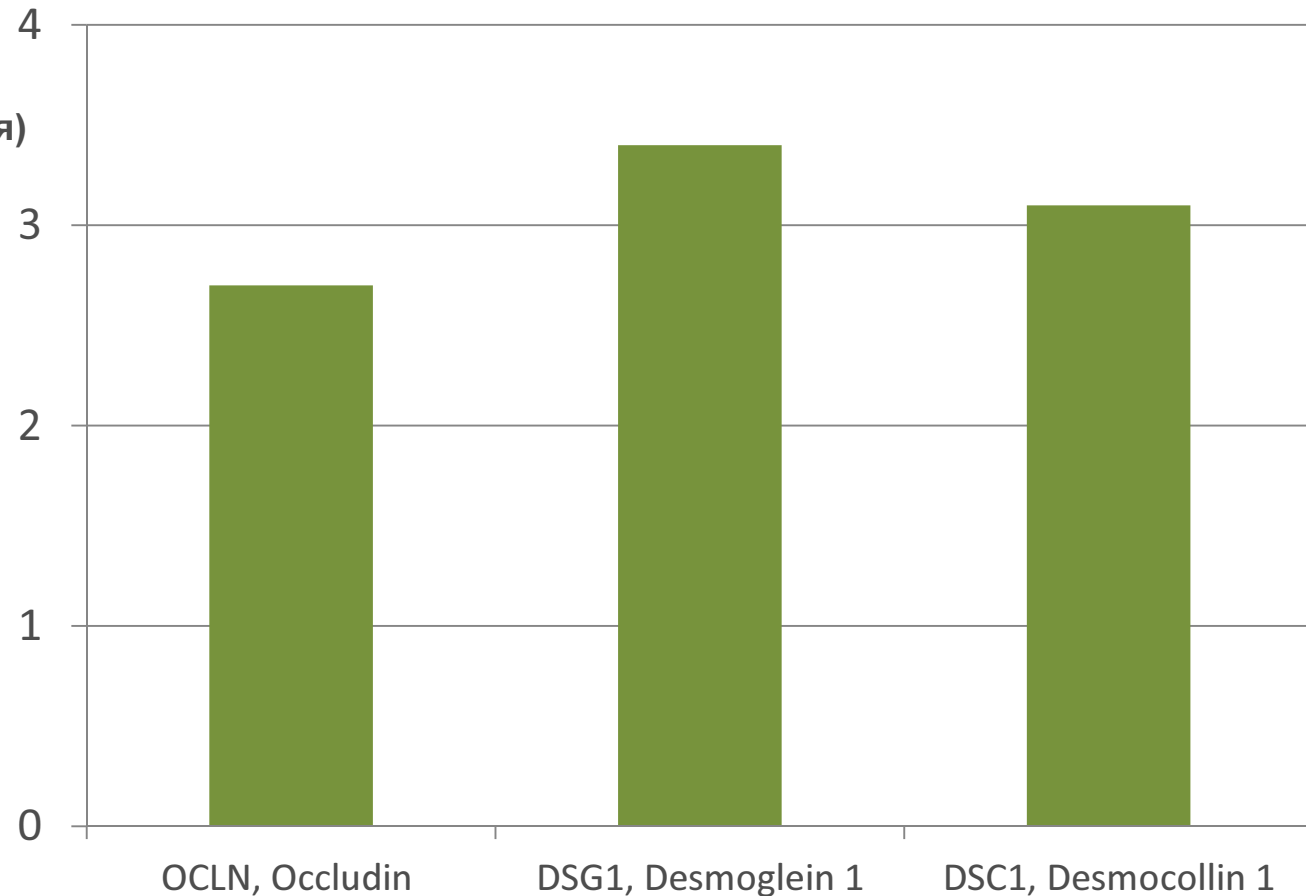
ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

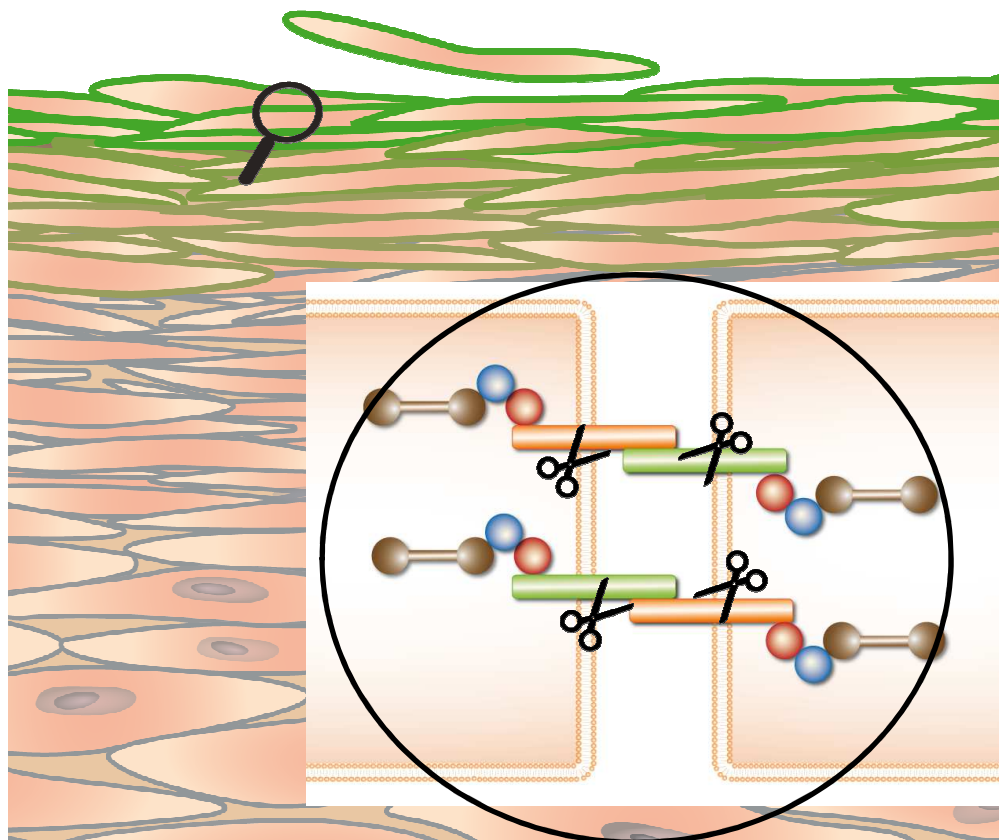
Стимуляция экспрессии генов в процессе дифференцировки

Повышение экспрессии
генов (кратность изменения)



ProRenew Complex CLR™

Калликреин 5 и 7: десквамация омертвевших чешуек кожи



Десквамация (шелушение)

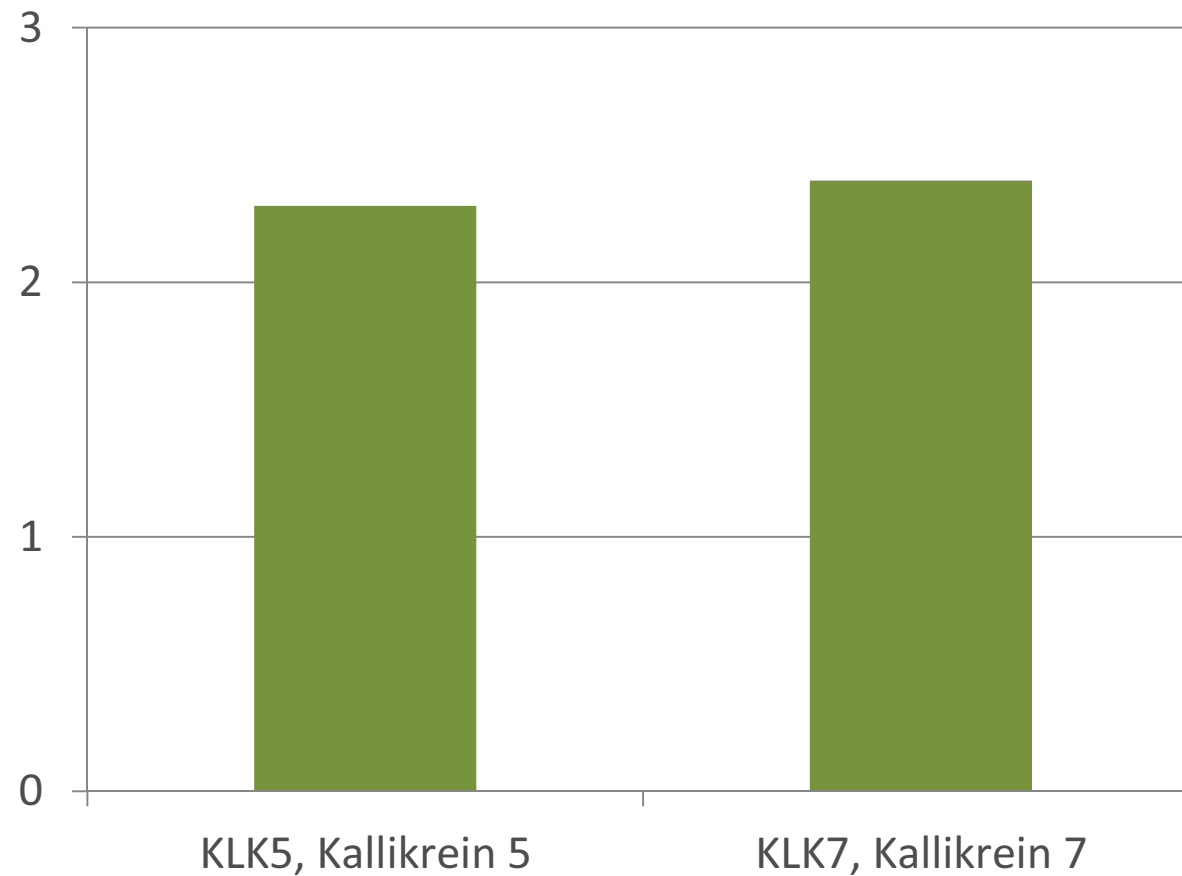
- на поверхности кожи омертвевшие пластинки отшелушиваются одна за другой
- Важный элемент процесса дифференцировки

Калликреин 5 и 7

- Протеолитические ферменты, которые разрушают внеклеточные структурные белки корнеодесмосом
- Калликреин 5 расщепляет Десмоглеин 1
- Калликреин 7 расщепляет Десмоколлин 1

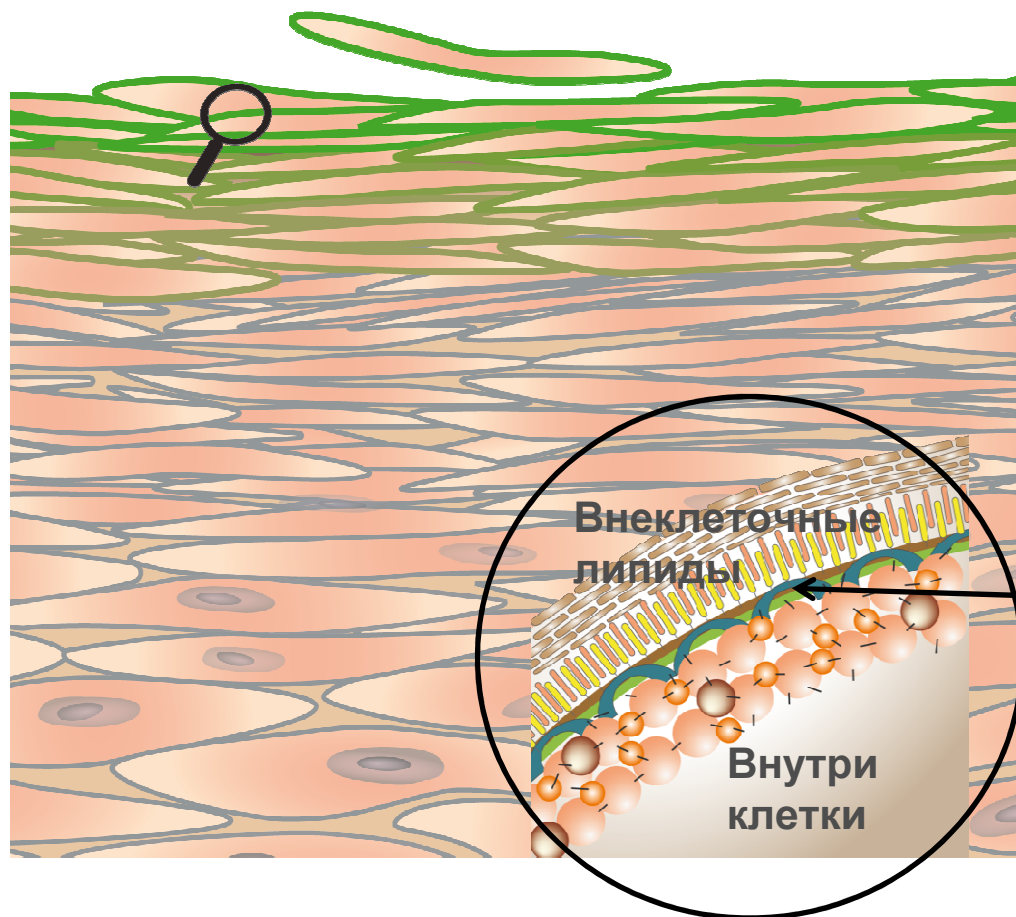
Стимуляция экспрессии генов в процессе дифференцировки

Повышение
экспрессии генов
(кратность изменения)



ProRenew Complex CLR™

Инволюкрин – ключевой компонент в роговом конверте



Роговой конверт

- комплексная сборка различных протеинов
- жизненно необходим для механической прочности корнеоцитов
- способствует прикреплению корнеоцитов к внеклеточной липидной матрице

Инволюкрин

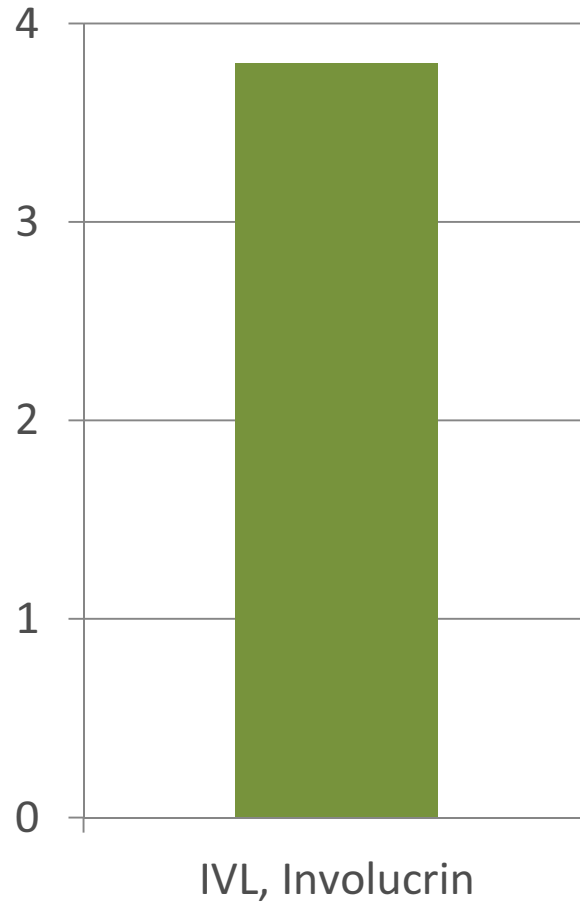
- Необходимый протеин в структуре ороговевшего слоя
- Обеспечивает прикрепление ороговевших клеток с внеклеточными липидами



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Стимуляция экспрессии генов в процессе дифференцировки

Повышение экспрессии генов (кратность изменения)



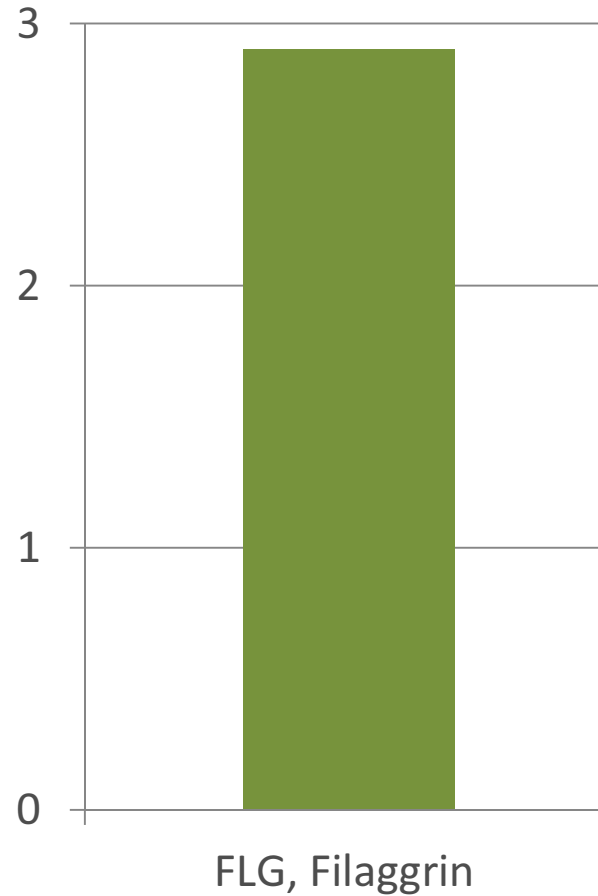
ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Стимуляция экспрессии генов в процессе дифференцировки

Повышение экспрессии генов (кратность изменения)



ProRenew Complex CLR™



ProRenew Complex CLR™

Гистологическая оценка маркеров, имеющие важное значение для успешного обновления эпидермиса

Результаты исследований

in vitro



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

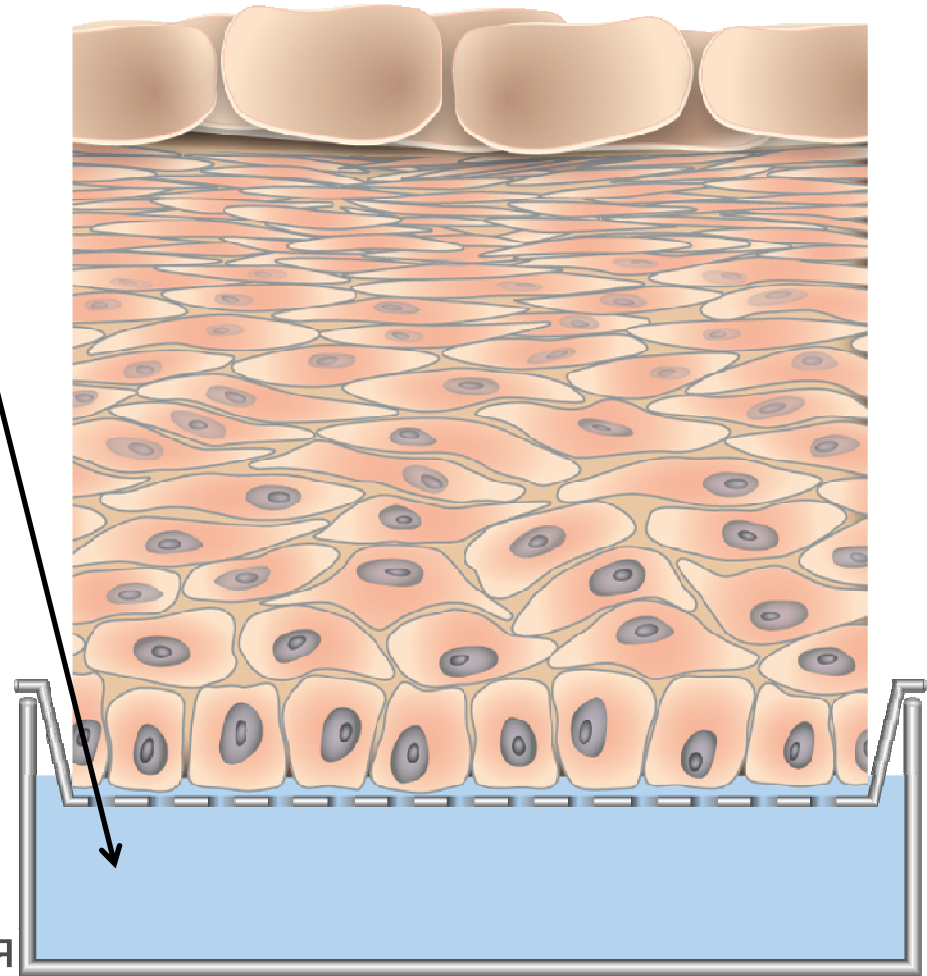
Влияние на рост эпидермиса

*14 дней роста (модель кожи)
при наличии ProRenew
Complex CLR™ (в среде,
добавленной на 4 день)*

Гистологическое исследование
дифференциальных маркеров:

- Трансглутаминаза 1 (TG1)
- Профилагрин и Филаггрин
- Каспаза 14
- Толщина рогового слоя

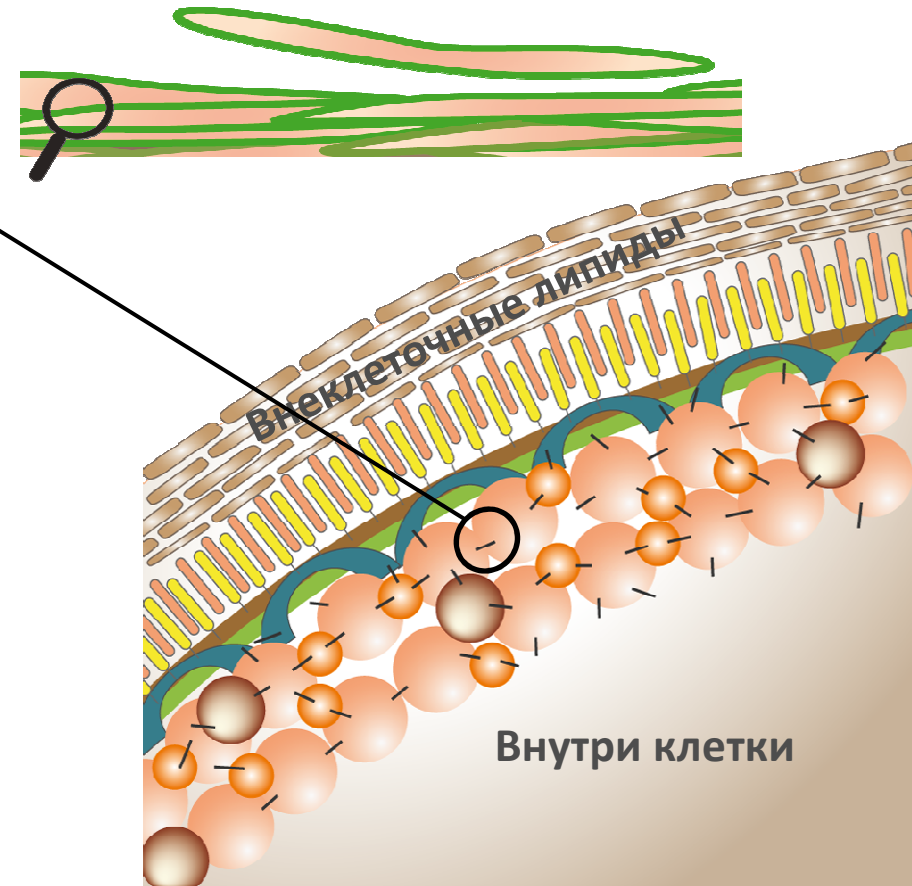
Исследование барьерной функции
(epiCS, CellSystems GmbH, Германия)



ProRenew Complex CLR™

Роговой конверт (РК): Трансглутаминаза 1

- Комплексная сборка различных протеинов
- Трансглутаминаза 1 (TG1) способна склеивать протеины и влияет на качество РК
- TG1 жизненно важен для сцепления липидов
- Особенно наблюдается снижение TG1 при фотостарении



Гистологическая оценка: Трансглутаминаза 1 (TG1)

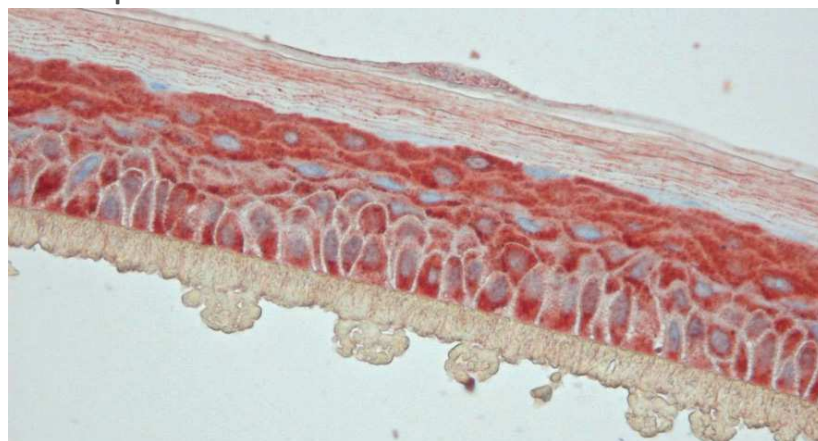
День 14:

Эпидермальная модель
кожи, обработанная
ProRenew Complex CLR™,
явно показала более высокий
уровень присутствия TG1 в
сравнении с контролем

(IgG изотип антитела, Abnova,
H00007051-B02P, АЕС субстрат,
хромогенное окрашивание,
увеличение: 400X)

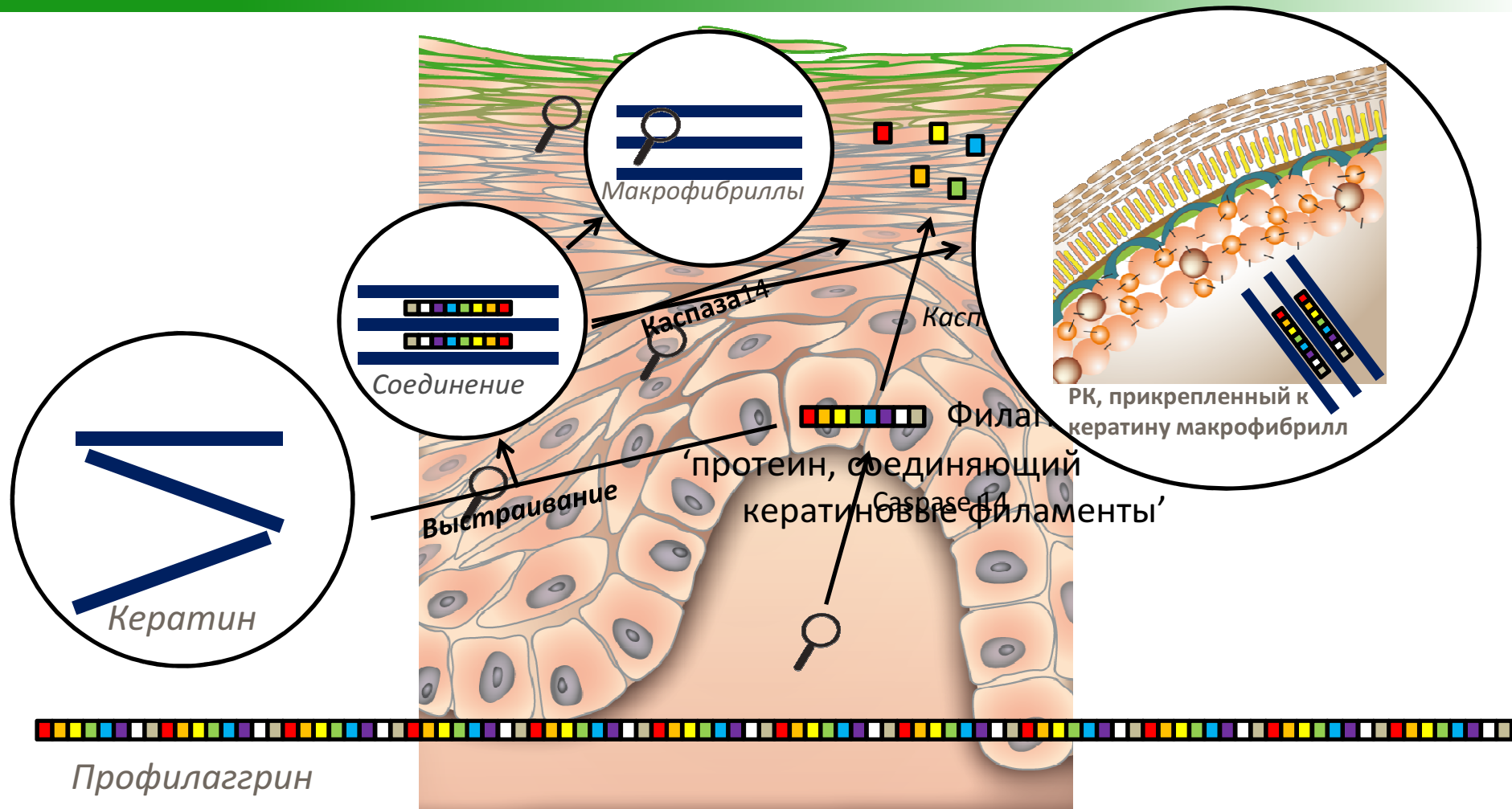


Контроль



3% ProRenew Complex CLR™

Профилаггрин, филаггрин и каспаза 14



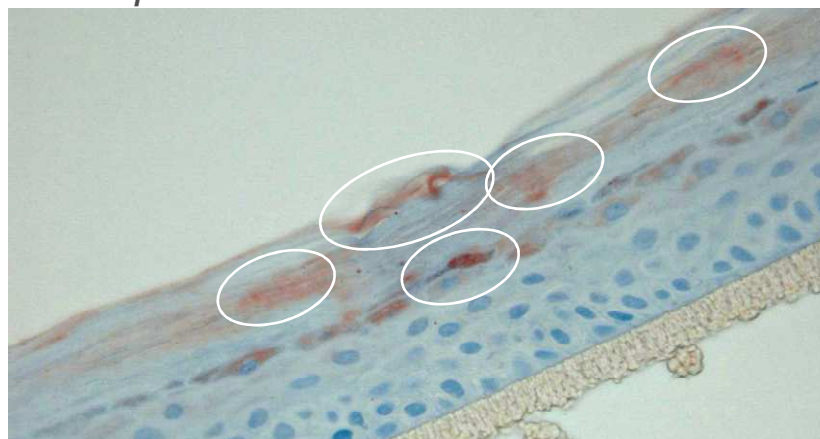
Гистологическое исследование: Профилаггрин и Филаггрин

День 14:

Эпидермальная модель
кожи, обработанная
ProRenew Complex CLR™,
показывает более высокое
содержание Филаггрина по
сравнению с контролем
(IgG1 изотип антитела,
Genetex,
GTX23137, АЕК субстрат,
хромогенное окрашивание,
увеличение: 400X)



Контроль



3% ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Гистологическое исследование: Каспаза 14

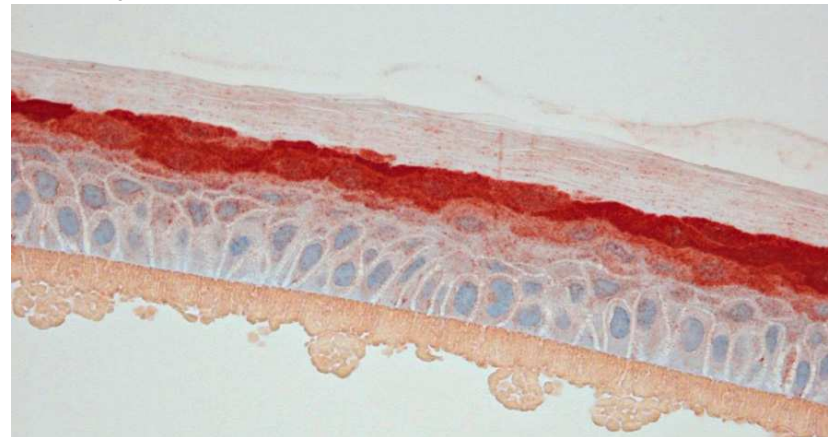
День 14 :

В эпидермальной модели
кожи, обработанной
ProRenew Complex CLR™,
четко наблюдается более
высокое содержание
Каспазы 14 в сравнении с
контролем

(IgG изотип антитела,
Genetex,
GTX85087, АЕК Субстрат,
хромогенное окрашивание,
увеличение: 400X)



Контроль



3% ProRenew Complex CLR™

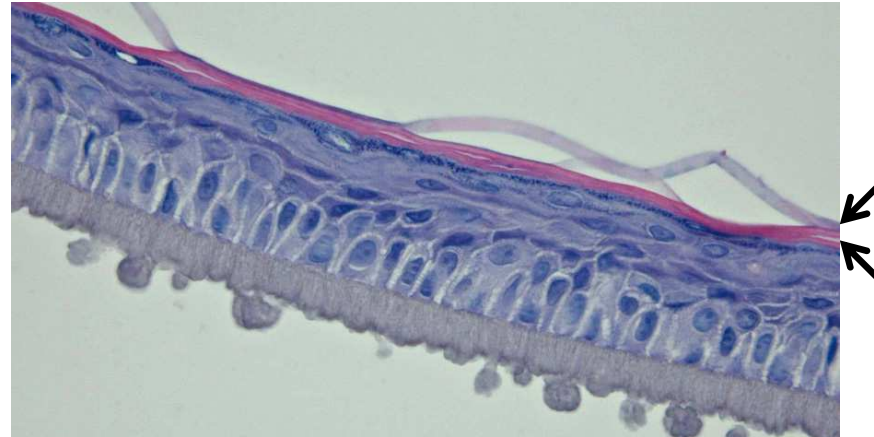
ProRenew Complex CLR™

Гистологическое исследование: Толщина рогового слоя

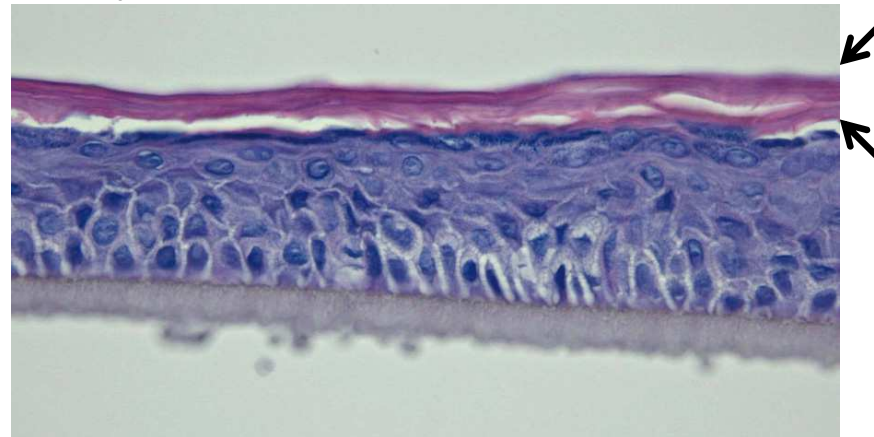
День 10:

У эпидермальной модели
кожи, обработанной
ProRenew Complex CLR™,
роговой слой толще в
сравнении с контролем

(Окраска гематоксилин-
эозином,
увеличение: 400X)



Контроль



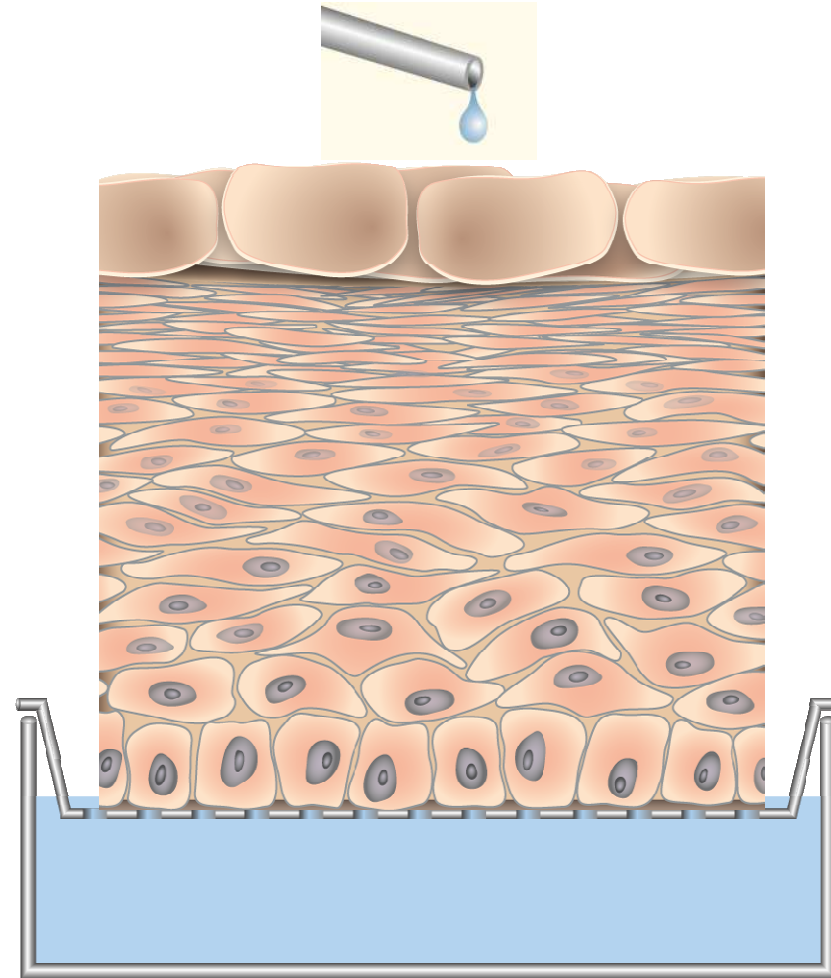
3% ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Анализ барьерной функции

Определение жизнеспособности
клеток (MTT) после местного
применения 0,4% SLS



ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

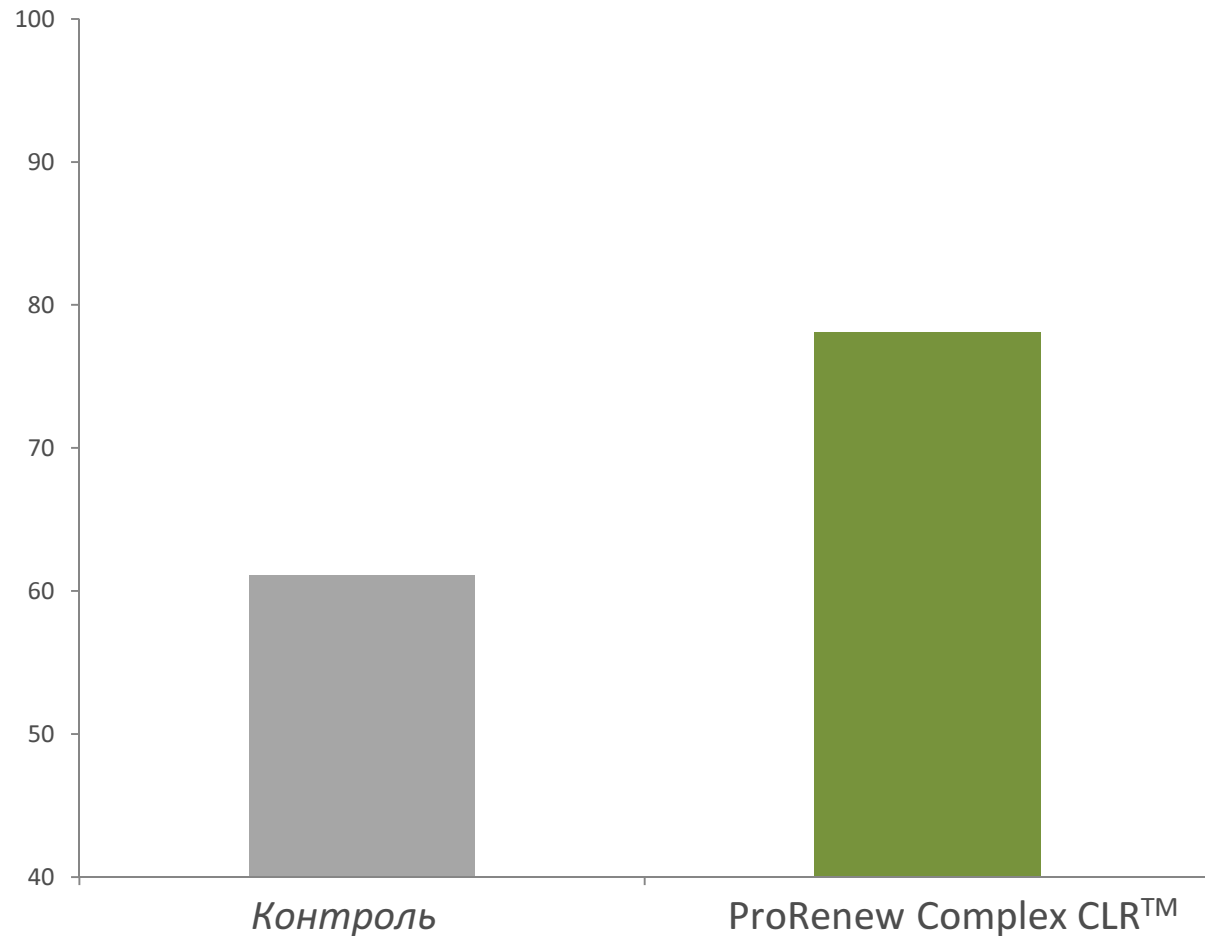
Влияние на барьерную функцию

Барьерная функция (%)

Относительно неповрежденной и необработанной кожи (=100%)

Эпидермальная модель кожи (epiCS), выращенная под действием 3% ProRenew Complex CLR после нанесения 0,4% р-ра SLS в течение 60 минут. Жизнеспособность клеток определяли непосредственно после. (Метод: МТТ-анализ)

Жизнеспособность контрольных клеток, не обработанных SLS, была установлена на уровне 100%.



ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

ProRenew Complex CLR™

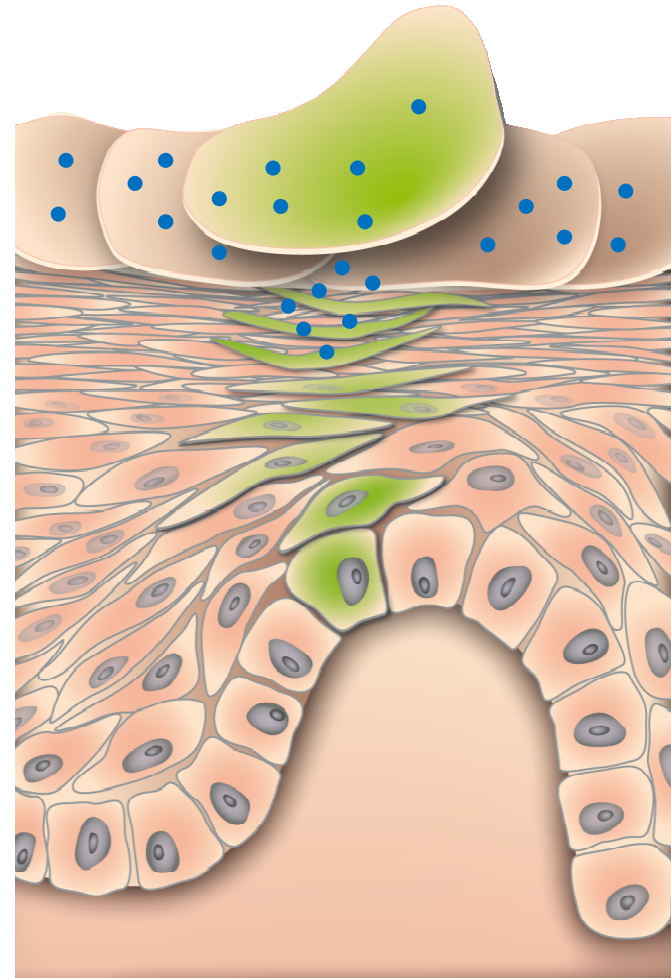
Влияние на продуцирование антимикробных пептидов

Результаты исследований

In vitro

Эпидермальные антимикробные пептиды

- Значительная часть врожденных иммунологических защитных механизмов нашей кожи от патогенных бактерий
- Ключевые элементы процесса эпидермальной дифференцировки
- Разрушение барьера инициирует потерю аденозина-монофосфата (AMPs) в роговом слое
- Согласно исследованиям, стареющий эпидермис сигнализирует о снижении производства AMPs и об увеличении риска бактериальной инфекции





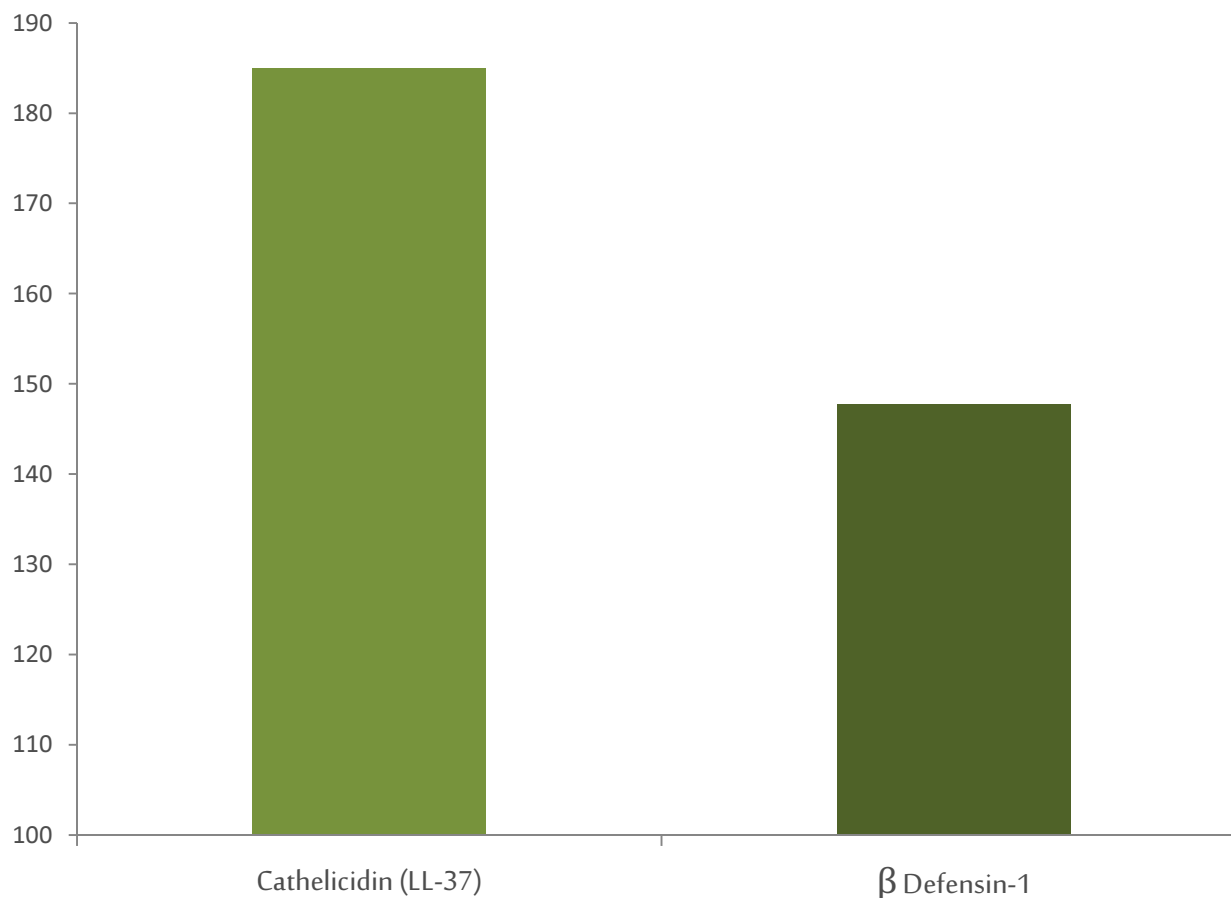
Стимуляция экспрессии Кателицидина (LL-37) и β Дефензина-1

Повышение экспрессии LL-37 и β Дефензин-1, %

Значения были определены после 48 (LL-37) и 72 часов (β Дефензин-1) в предварительной инкубации в присутствии 1% ProRenew Complex CLR™.

Кератиноциты лизировали, прежде чем был проведен анализ ИФА (HyCult Biotech).

Котроль установлен на 100%.



ProRenew Complex CLR™



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

ProRenew Complex CLR™

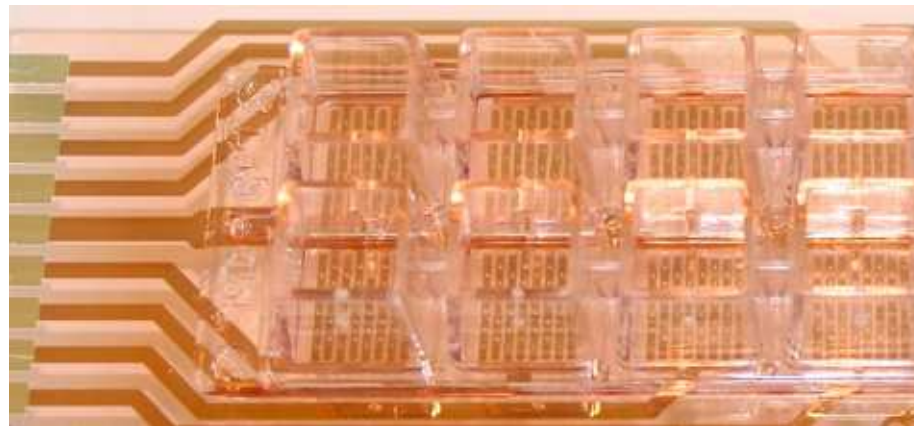
Влияние на сцепление кератиноцитов

Результаты исследований

In vitro

ECIS (Electric Cell-substrate Impedance Sensing): **Динамическое измерение импеданса клеток**

Автоматизированный неинвазивный метод контроля поведения клеток - пролиферация и когезия

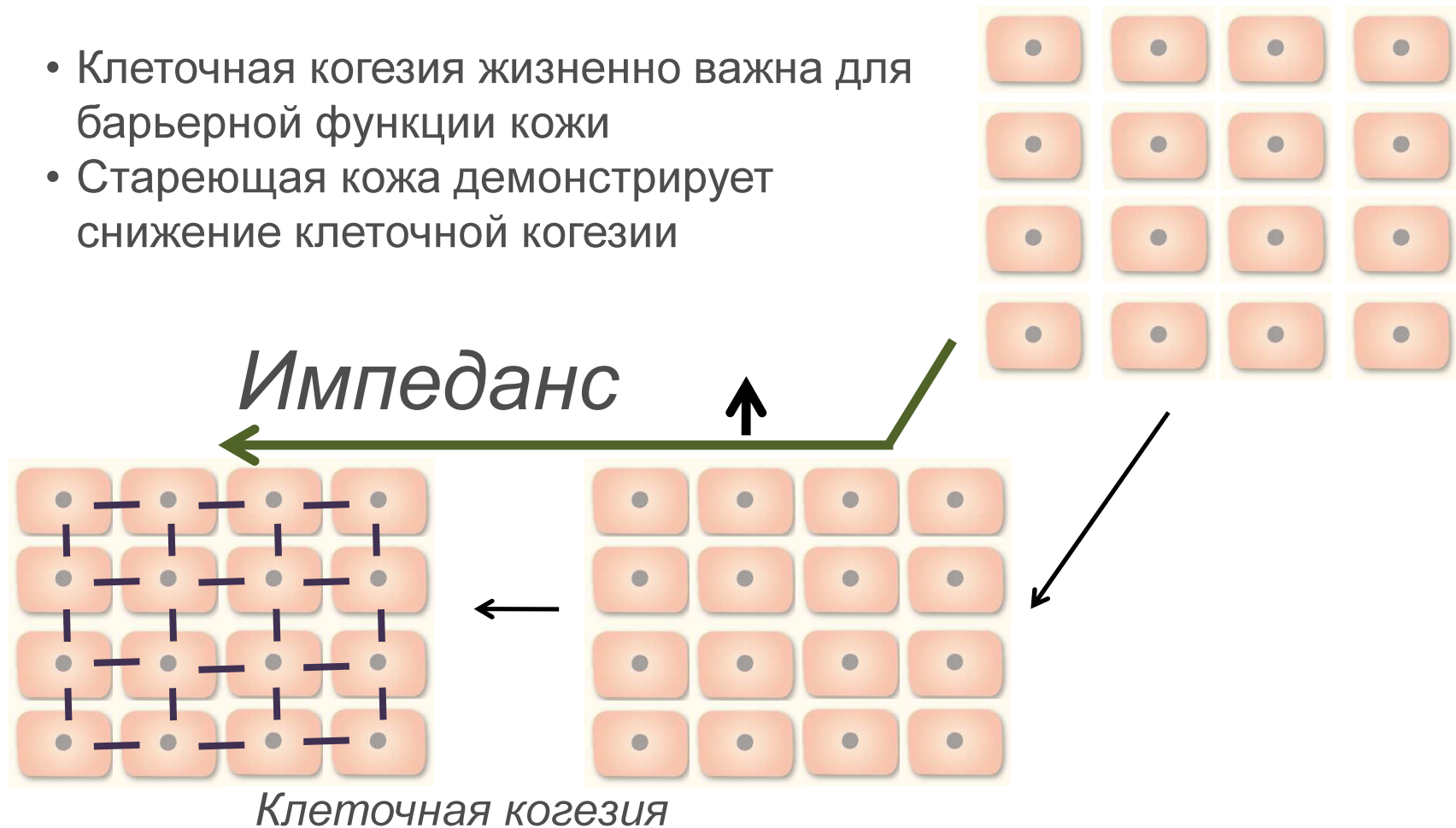




InDel Когезия кератиноцитов: ECIS

INDUSTRIAL DELIVERY

- Клеточная когезия жизненно важна для барьерной функции кожи
- Стареющая кожа демонстрирует снижение клеточной когезии



ProRenew Complex CLR™

Повышение когезии кератиноцитов

Увеличение Импеданса (%)
Человеческие кератиноциты поместили в кристалле матрицы между электродами на 24 ч, после чего был добавлен 0.1% ProRenew Complex CLR™, t=0, тестировали относительно контроля. Импеданс регистрировали как функцию времени.

Импеданс, измеренный контролем, был принят за 0%

За клетками наблюдали по методу *ECIS*



ProRenew Complex CLR™

- *Пробиотический антивозрастной подход к обновлению кожи*
- *Стимулирует выработку ключевых компонентов дифференцировки и качества кожи*
- *Улучшается сцепление кератиноцитов*
- *Улучшается выработка антимикробных пептидов*
- *Стимулирует обновление кожи и ускоряет восстановление кожного барьера*



INCI : Lactococcus Ferment Lysate

Процент ввода: 3%

pH-диапазон: 4.0 - 7.0

Консервант: 0.3% Натрия бензоат



InDel
INDUSTRIAL DELIVERY

Вопросы





Вопросы

Спасибо за внимание!
