

# РІР КРЕМ С ПРОБИОТИКАМИ- СТИМУЛЯТОР ЕСТЕСТВЕННЫХ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ, СБЕРЕГАЮЩИЙ ЭКОЛОГИЮ И ЗДОРОВЬЕ ВАШЕЙ КОЖИ

## СОДЕРЖАНИЕ

САМА ПРИРОДА И ВАША КОЖА  
ЕДИНЫ В СТРЕМЛЕНИИ ПОДДЕРЖАТЬ ЗДОРОВЫЙ БАЛАНС

### I. КОЖА: ВАЖНЕЙШИЙ ОРГАН С ТРОЙНОЙ СИСТЕМОЙ ЗАЩИТЫ

1. Микробиологический защитный барьер: микрофлора кожи
2. Физический защитный барьер: роговой слой эпидермиса *Stratum corneum*
3. Биологический защитный барьер: эпидермис и дерма
4. Экосистема кожи

### II. СВОЙСТВА И СОСТАВ

1. Описание
2. Физико-химические свойства

### III. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Стимуляция естественных защитных механизмов кожи

1. С помощью пребиотиков
2. С помощью пробиотиков
3. С помощью стимуляции бета-дефензинов
4. Косметическое действие

### IV. ДЕМОНСТРАЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ

1. Стимуляция благоприятной кожной микрофлоры путем биоселективной ассимиляции
2. Не усвоение нежелательными микроорганизмами
3. Конкурентное ингибирование роста микроорганизмов
4. Стимуляция выработки гена, кодирующего бета-дефензин 2
5. Изучение реструктурирующего, питательного и разглаживающего эффектов

### V. ОСОБЕННОСТИ ФОРМУЛЫ И ПРИМЕНЕНИЯ

1. Концентрация
2. Косметическое применение
3. Характерные области применения

### VI. ПРОВЕРКА НА БЕЗОПАСНОСТЬ

### VII. ПРИЛОЖЕНИЕ

## **САМА ПРИРОДА И ВАША КОЖА ЕДИНЫ В СТРЕМЛЕНИИ ПОДДЕРЖАТЬ ЗДОРОВЫЙ БАЛАНС**

На сегодняшний день в мировом сообществе наблюдается новая тенденция: все большее количество людей начинает интересоваться вопросами экологии. Это неудивительно, ведь все мы, без исключения, являемся жителями планеты Земля и ежедневно пользуемся ее природными благами. Именно поэтому так важно следовать правилам рационального экологического развития в повседневной жизни.

Необходимость оберегать природу путем обеспечения устойчивого баланса между ней и деятельностью человека затрагивает, в первую очередь, интересы самого человечества.

Мотивы, побуждающие нас вставать на защиту природы и всего ее биоразнообразия, включающего и человеческий вид, имеют некоторое сходство с механизмом, который задействует наша кожа, стремясь защитить организм от воздействий внешней агрессивной среды.

Итак, начиная с этого момента, мы можем перейти к самой сути разговора о важности заботы о нашей коже - заботы, которая начинается с сознательного отношения к микрофлоре кожи человека, т.е. ко всем экосистемам, оберегающим ее.

Кожа, по сути, является одним из самых сложных и важных органов человеческого тела, поскольку она создает защитный барьер против зачастую враждебной внешней среды. Преимущество кожи состоит в том, что она состоит из трех слоев, обладая при этом эффективной системой внутри- и межклеточных коммуникаций. Благодаря своему строению кожа, в самом широком смысле этого слова, функционирует как настоящая экосистема и включает в себя:

- Физический барьер в виде рогового слоя эпидермиса *Stratum corneum*;
- Биологический барьер, состоящий из эпидермиса, дермы и подкожно-жировой клетчатки;
- Микробиологический барьер, состоящий из сапрофитных бактерий, объединенных собирательным термином “микрофлора”. Основной его функцией является защита кожи от инвазии патогенных и непатогенных, а также условно-патогенных микроорганизмов, что характеризуется стимуляцией иммунной системы кожи.

Однако, как и любой подобный механизм, со временем эта тройная система защиты становится все менее эффективной. Количество агрессивных факторов внешней среды постоянно возрастает. Это неизбежно приводит к необходимости восстановления баланса, что порой невозможно без помощи извне.

В самом деле, чрезмерная сухость кожи, ощущения стянутости и покалывания - это тревожные знаки, которые сообщают нам о том, что существует некая проблема. Кожа постепенно тускнеет и теряет упругость, кажется уставшей, а морщинки становятся более выраженными. В этом

случае следует немедленно принять меры для восстановления кожного баланса.

Малейшее нарушение баланса микрофлоры кожи может серьезно сказываться на состоянии всей экосистемы кожи.

Микрофлора кожи сама по себе чрезвычайно чувствительна к воздействию факторов внешней среды, а также к химическим воздействиям. При ненадлежащем использовании гигиенических средств происходит ее негативное изменение: количество полезных бактерий сокращается, и на замену им приходят условно-патогенные бактерии, вносящие дисбаланс в *Stratum corneum*, роговой слой эпидермиса, и, в конечном счете, вредящие экосистеме кожи в целом. Именно поэтому для укрепления иммунной системы кожи рекомендуется использовать особые косметические средства, способные устранить дискомфорт и улучшить общее состояние кожи.

Такие косметические средства содержат в себе:

- Пребиотики - вещества, непрерывно стимулирующие рост благоприятной микрофлоры кожи;
- Пробиотики - безвредные для человека микроорганизмы, способные восстанавливать нормальную микрофлору путем нейтрализации других патогенных микроорганизмов.

Высшим достижением ученых Гентского университета (Бельгия) явилось создание уникальных косметических средств на основе пре- и пробиотического комплекса, в составе которых ухаживающие компоненты объединены с живыми культурами.

## РІР КРЕМ С ПРОБИОТИКАМИ

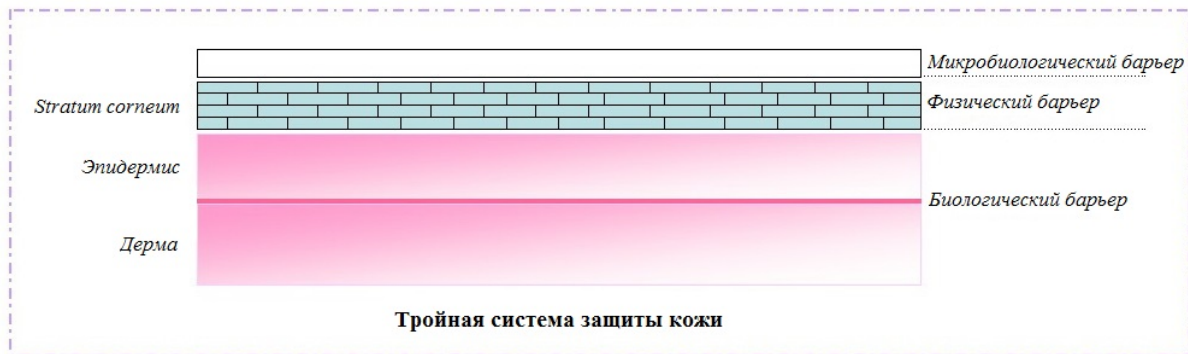
СТИМУЛИРУЕТ ЕСТЕСТВЕННЫЕ ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОЖИ,  
УКРЕПЛЯЯ И ПОДДЕРЖИВАЯ ЕЕ ЗДОРОВЬЕ!

### **I. КОЖА: ВАЖНЕЙШИЙ ОРГАН С ТРОЙНОЙ СИСТЕМОЙ ЗАЩИТЫ**

Кожа является самым обширным органом человеческого организма - ее площадь у взрослого человека в среднем составляет от 1.5 до 2 квадратных метров. Также она составляет 8% от общей массы человеческого тела и выполняет роль первичного защитного барьера. Обладая высокоэффективной системой внутри- и межклеточных коммуникаций, кожа призвана противостоять любым внешним угрозам, при условии, если ее защитные механизмы остаются неповрежденными. Любой агрессивный фактор внешней среды сталкивается прежде всего со сложной системой защиты кожи, образованной тремя барьерами, расположенными один за другим:

1. Микробиологический барьер: микрофлора кожи;
2. Физический барьер: роговой слой эпидермиса *Stratum corneum*;

### 3. Биологический барьер: эпидермис и дерма.



#### 1. Микробиологический защитный барьер: микрофлора кожи

Микрофлора - это естественная благоприятная флора (также известная как сапрофитная флора), образованная полезными микроорганизмами. Микрофлора взаимодействует непосредственно с кожей человека, поскольку именно поверхность кожи является средой ее обитания.

Не представляя никакой опасности для организма, микрофлора, напротив, защищает его от вторжения различных чужеродных микроорганизмов, способных вызвать многочисленные инфекционные заболевания. Более того, микрофлора помогает укреплять иммунную систему кожи.

Микрофлора выполняет роль своеобразной системы оповещения, существующей не только для всесторонней защиты кожного покрова, но и для предупреждения организма о возможном дисбалансе, что приводит к стимуляции его защитных механизмов.

Исходя из самого термина "микрофлора", мы можем утверждать, что данные бактерии являются неотъемлемой частью биологического многообразия, формирующего саму сущность нашей кожи. В соответствии с нуждами кожи, микрофлора должна постоянно восстанавливаться, чтобы обеспечивать ее структурную и функциональную целостность и, что немаловажно, ее комфорт.

Наша кожа защищена в полной мере только в том случае, если благоприятная микрофлора присутствует на ее поверхности в достаточной концентрации. Как только концентрация благотворных микроорганизмов подвергается риску воздействия со стороны факторов, связанных как с проявлениями внешней среды, так и с образом жизни человека, микрофлора немедленно становится мишенью для условно-патогенных микроорганизмов, ищущих малейшую возможность для того, чтобы "пустить корни" в чужой среде обитания.

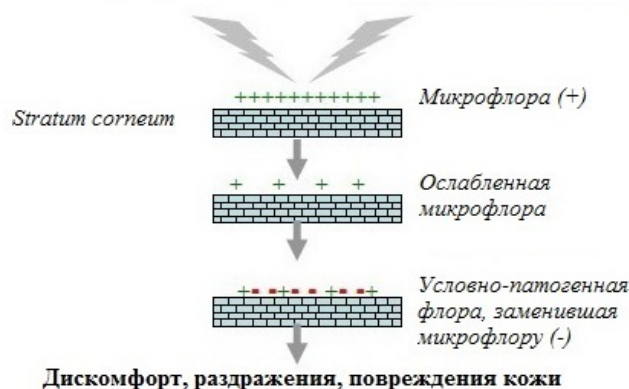
## Факторы риска

### Связанные с образом жизни:

- Гигиена (частое мытье тела и рук с использованием антибактериальных средств и ПАВ вредит состоянию кожи);
- Злоупотребление бытовой химией;
- Стресс;
- Диета (несбалансированное питание и т.п.)

### Связанные с проявлениями окружающей среды:

- Загрязнение среды (выхлопные газы, сигаретный дым, промышленные выбросы, пылевые частицы);
- Перепады температуры (сезонные изменения, кондиционирование воздуха)



Столкнувшись с большим количеством агрессивных факторов внешней среды, кожа, лишенная части своей естественной микрофлоры, становится крайне уязвимой и подвергается беспорядочной колонизации чужеродными патогенами.

### ЗАМЕТКА:

Мэри Марплс (“Экология человеческой кожи”, 1965) была первым микробиологом, рассмотревшим поверхность человеческого тела не как единое населенное микроорганизмами пространство, но как “карту”, совокупность разных ландшафтов.

“Поверхность кожи не образует единое целое; ее можно сравнить с нарядом Арлекина, состоящим из лоскутов - участков, отличных друг от друга, но соединенных между собой, каждый из которых обладает особыми характеристиками и собственной бактериальной микрофлорой.”

Микрофлора кожи каждого человека специфична и включает в себя микробную популяцию, которая изменяется как качественно, так и

количественно в зависимости от области тела (концентрация микроорганизмов варьируется от  $10^2$  до  $10^5$  микробов на  $см^2$ ).

*Образцы флоры, обнаруженные на поверхности кожи и слизистых оболочках  
(Классификация дана в соответствии со “Справочником Берджди по  
бактериологической систематике”, 1984)*

<b>Флора</b>	<b>Кожная</b>
Сапрофиты	<i>Micrococcus kristinae, M. lylae, M. Sedentarius; Staphylococcus capitis; Saprophyte Corynebacterium pseudo-diphtheriticum, C. xerosis; Malassezia furfur</i>
Патогены	<i>Corynebacterium minutissium; Staphylococcus aureus; Propionibacterium acnes; Candida albicans</i>
Условные патогены	<i>Staphylococcus warneri, S. xylosus, S. simulans; Propionibacterium avidum, P. granulosum</i>

## **МИКРОФЛОРА И ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ**

Микрофлора представляет собой главную составляющую иммунной системы кожи. Она обеспечивает кожу системой микробиологической защиты, предотвращая воздействие нежелательных (патогенных и непатогенных) микроорганизмов посредством конкурентного ингибирования и выработки ферментов (энзимов), бактерицидных веществ и даже антибиотиков - синтезируемых микроорганизмами веществ, способных в малом количестве оказывать избирательное токсическое действие на другие микроорганизмы.

Знания о жизнедеятельности микрофлоры в пределах иммунной системы основаны на многочисленных экспериментальных исследованиях, проведенных на гнотобиотах - животных, свободных от микроорганизмов, получаемых и выращиваемых в стерильных условиях для экспериментальной работы [“Etude de la flore intestinale” (“Изучение

кишечной микрофлоры”), Ducluzeau, Raibaud]. В наши дни механизмы действия кожной, кишечной и влагалищной микрофлоры начинают активно изучаться. Данные исследования являются перспективным направлением для развития и косметической, и фармацевтической промышленности.

Малейшее нарушение баланса микрофлоры ведет к закономерной иммунной недостаточности, незамедлительно приводящей в действие неспециализированные, но при этом действенные защитные механизмы.

## **2. Физический защитный барьер: роговой слой эпидермиса *Stratum corneum***

Степень защищенности живых организмов от различных факторов внешней среды зависит от характера оберегающей их оболочки. Именно поэтому наша кожа, устойчивая к растяжению и невероятно прочная, образована несколькими клеточными слоями. Самый верхний из них, роговой слой эпидермиса *Stratum corneum*, выполняет важную защитную функцию. Структура рогового слоя эпидермиса, словно стена, состоит из кирпичиков - ороговевших чешуек кожи (иногда их называют корнеоцитами), заполненных кератином и потому легко поглощающих воду. Они соединяются между собой с помощью взаимопроникающих выростов оболочки. Диффузия через роговой слой происходит либо трансцеллюлярным путем, т.е. проникновением веществ через слой ороговевших клеток напрямую, либо путем проникновения через пространство между клетками, свободное от дополнительно скрепляющего их межклеточного вещества. Любое повреждение целостности рогового слоя неизбежно приведет к образованию микротрещин, через которые вглубь кожи могут проникать бактерии, способные вызвать ее инфицирование.

## **3. Биологический защитный барьер: эпидермис и дерма**

В случае, если патогенным микроорганизмам все же удалось “обойти” внешние барьеры, им придется проникнуть и сквозь сдвоенную защитную систему: нижний слой эпидермиса и дерму. Эпидермис и дерма лежат в основе эффективной системы клеточной коммуникации, позволяющей клеткам иммунной системы, клеткам кожи, а также нервным клеткам не только обмениваться информацией, но и координировать свои действия на случай проникновения в организм патогенов. Эта клеточная активность запускает биологические защитные механизмы, призванные восстанавливать баланс в пределах кожного покрова.

#### 4. Экосистема кожи

Подобно тому, как природа, образованная рядом различных экосистем, взаимодействующих между собой и зависящих друг от друга, обеспечивает саморегуляцию, так и кожа представляет собой сложный орган, который нуждается в постоянной регуляции. Целостность и, соответственно, комфортное состояние кожи сохраняются благодаря поддержанию различных балансов в ее пределах. Таким образом, роговой слой эпидермиса и микрофлора кожи тесно взаимосвязаны, так, что любое воздействие внешней агрессивной среды на одну из сторон неизбежно приводит к нарушениям во всей экосистеме, что, в свою очередь, сказывается на общем самочувствии организма.

## II. СВОЙСТВА И СОСТАВ

### 1. Описание

PiP Крем с Пробиотиками - косметическое средство на основе пре- и пробиотического комплекса и мальтодекстрина, содержащий:

- $\alpha$ -глюкоолигосахариды, получаемые из природных дисахаридов, мальтозы и сахарозы, с помощью ферментативного синтеза;
- 100% растительный сок, богатый  $\beta$ -фруктоолигосахаридами, получаемыми из корнеплодов хикамы или якона (*Polymnia sonchifolia*) в процессе холодного отжима при условиях, исключающих денатурацию;
- пробиотические бактерии, 5 штаммов *Bacillus subtilis* дезактивированные и стабилизированные

### 2. Физико-химические свойства

#### ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

<b>Форма выпуска</b>	Крем
<b>Запах</b>	Характерный

#### РАСТВОРИМОСТЬ

<b>В воде</b>	Растворимый
<b>В минеральных/растительных маслах</b>	Нерастворимый

#### КОНСЕРВИРУЮЩИЕ ДОБАВКИ



- РiР Крем с Пробиотиками не содержит консервантов.

### III. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Для того, чтобы сохранить молодость кожи, ее тонус и красоту, важно заботиться об ее здоровье, уделяя внимание своевременному питанию и увлажнению. Следование здоровому образу жизни, в свою очередь, имеет первостепенное значение в поддержании естественного баланса.

Микрофлора кожи ежедневно подвергается разнообразным негативным воздействиям, становясь более уязвимой, что в итоге приводит к ухудшению состояния кожи: ощущению стянутости, покалыванию, зуду.

Для успешного противостояния внешним угрозам организму требуется поддержание естественного баланса кожной микрофлоры, стимуляция ее роста и восстановление. Кроме того, необходимым условием является стимуляция активности кератиноцитов - основных клеток эпидермиса, способных синтезировать особые антимикробные пептиды (кателицидины и бета-дефензины), а также - клеток Лангерганса и лейкоцитов для улучшения общего состояния кожи и ее внешнего вида.

### СТИМУЛЯЦИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ КОЖИ

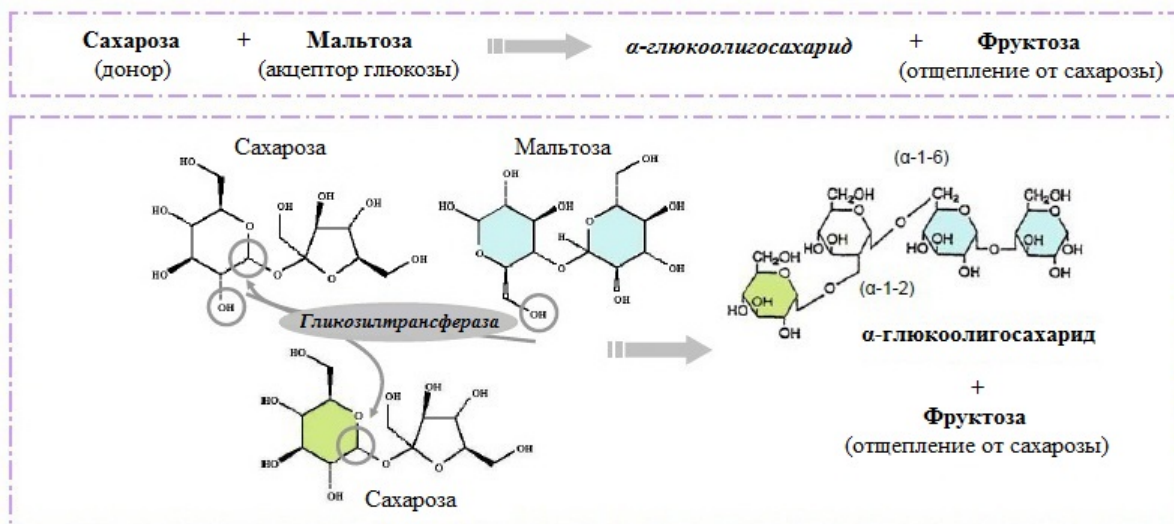
#### 1. С помощью пребиотиков

Пребиотиками считаются неперевариваемые субстраты, которые благотворно влияют на здоровье человека путем избирательной стимуляции роста и/или жизнедеятельности ограниченного количества бактерий, в особенности, кожной микрофлоры. Было доказано, что фруктоолигосахариды, наряду с глюкоолигосахаридами, обладают наибольшей способностью к пребиотической активности. Первоначально польза глюкоолигосахаридов была отмечена в сфере функционального питания; в настоящее время они находят применение и в косметической сфере.

- Глюкоолигосахариды

Итак,  $\alpha$ -глюкоолигосахариды (GOS), или олигоглюканы - это полимеры, построенные из остатков глюкозы, которые образованы с помощью  $\alpha(1-2)$  и  $\alpha(1-6)$  гликозидных связей, что делает их избирательными в отношении благоприятной кожной или кишечной микрофлоры, способными положительно воздействовать на нее. В сфере функционального питания  $\alpha$ -глюкоолигосахариды характеризуются их способностью производить карбоновые жирные кислоты, имеющие важную роль в физиологии пищеварения. Содержащиеся в РiР Кремe с Пробиотиками  $\alpha$ -глюкоолигосахариды синтезируются путем полимеризации молекул глюкозы. Катализатором данной реакции выступает особый фермент - гликозилтрансфераза, выделенный из штаммов безвредных бактерий рода *Leuconostoc*. Для успешного

протекания реакции необходимо присутствие донора - сахарозы - и мальтозы, которая выступит акцептором глюкозы.



- Фруктоолигосахариды

$\beta$ -фруктоолигосахариды (FOS), также известные как олигофруктаны - это природные полисахариды, которые в своей натуральной форме содержатся в топинамбуре, бананах, цикории, луке и пр., но могут быть получены и путем ферментативного синтеза. Они не усваиваются организмом человека, так как представляют собой короткие цепочки фруктозы, соединенные  $\beta(1-2)$  гликозидными связями. Фруктоолигосахариды широко известны своей способностью благотворно влиять на общее состояние здоровья человека: снижать концентрацию глюкозы в крови, улучшать усвояемость кальция и, прежде всего, стимулировать рост полезных бифидобактерий.

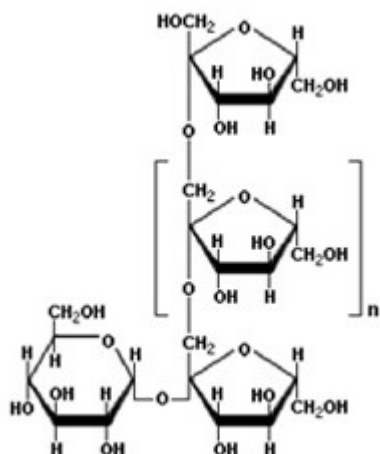


Рис. 1: Химическая формула синтезированных FOS

## “МЕДОВЫЙ ПЛОД” ИНКОВ - ИСТОЧНИК ФРУКТООЛИГОСАХАРИДОВ

Растения якон и хикама являются настоящим кладом полифруктозана инулина; его процентное содержание в корнеплодах составляет около 67%. Инулин не переваривается пищеварительными ферментами организма человека, и в связи с этим применяется в медицине в качестве пребиотика. Якон (*Polymnia sonchifolia* или *Smallanthus sonchifolia*) - травянистое многолетнее растение из семейства астровых, известное еще со времен древних инков. Оно вырастает до 3 метров в высоту и культивируется в жарком, влажном климате многих стран Латинской Америки.

Фактически, съедобный клубнеплод якона является овощем и содержит в себе множество питательных веществ, необходимых для нормального функционирования организма (инулин, свободные фруктоолигосахариды, витамины, минералы и пр.). Традиционное название “медовый плод” закрепилось за яконом из-за состава и своеобразной консистенции сока его клубнеплодов. Якон может служить в качестве натурального сахарозаменителя для диабетиков; он также известен как продукт, значительно улучшающий пищеварение благодаря обилию пребиотиков в своем составе.

Для того, чтобы сохранять уникальные свойства клубнеплодов якона и извлекать из них максимальную пользу, при этом получая неизменные β-фруктоолигосахариды, наша компания сделала выбор в пользу холодного отжима - щадящего способа, не требующего использования растворителей.

### 2. С помощью пробиотиков

Термин “пробиотик” происходит от греческих слов “*pro*” и “*bios*”, что значит “для жизни”. Следовательно, пробиотики являются собой микроорганизмы, которые способны восполнять кожную и кишечную микрофлору организма, одновременно с этим стимулируя и подпитывая его иммунную систему.

*Русский биолог, И.И. Мечников, основоположник русской микробиологии и иммунологии, был первым исследователем, который отметил способность молочнокислых бактерий (или, по-другому, лактобактерий) положительно воздействовать на здоровье человека, а именно - устранять продукты жизнедеятельности присутствующих в пищеварительном тракте микроорганизмов. Данные бактерии в большом количестве содержатся в ферментированных молочных продуктах, в особенности, в натуральных йогуртах. Проводя исследование о связи типа питания с продолжительностью жизни людей, Мечников выяснил, что Болгария значительно превосходит другие страны по количеству долгожителей. По мнению ученого, причиной этому стало ежедневное употребление жителями традиционного “болгарского йогурта”, в состав которого входит особая бактерия, позднее названная *Lactobacillus bulgaricus*.*

*Впоследствии было проведено множество международных исследований, призванных подтвердить благотворное влияние пробиотиков на здоровье человека. Причем исследования проводились и по поводу влияния пробиотиков на здоровье кожи и слизистых.*

Изучив множество различных видов бактерий с пробиотическими свойствами, ученые Гентского университета отобрали 5 штаммов бактерий *Bacillus subtilis* и включили их в формулу PiP Крема с Пробиотиками, предварительно подвергнув определенным методам консервации и стерилизации, чтобы свести на нет вероятность дальнейшего размножения бактерий в косметических средствах.

Данные бактерии представляют особый интерес, поскольку они, во-первых, обладают антигенными свойствами и, во-вторых, способны стимулировать выработку кератиноцитами бета-дефензинов - антимикробных пептидов, активных в отношении бактерий, грибов и многих вирусов (см. описание ниже).

### **Свойства бактерий**

*Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В 7048 и *Bacillus licheniformis* штамм ВКПМ В 7038, *Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В 7092, может быть эффективным при профилактике и лечении следующих заболеваний человека:

-местные первично – гнойно-воспалительные процессы кожи и мягких тканей: импетиго, целлюлиты, фолликулиты, фурункулы, карбункулы, гидраденит (сучье вымя), фарингиты, ангины, риниты, панариции, абсцессы, флегмоны, пиодермии и др.; системные стафилококковые инфекции: острый и хронический гнойные отиты, конъюнктивиты, синуситы, медиастиниты, перикардиты, маститы, аппендициты, холециститы, панкреатиты, парапроктиты, перитониты, энтериты, колиты, пиелонефриты, пиелиты, уретриты, циститы, сальпингоофориты, остеомиелиты, менингиты, омфалиты, панариции и др. (возбудитель *staphylococcus aureus*);

-кожные поражения, абсцессы, инфекции ожоговых поражений, кератиты, отиты наружного уха, менингиты, бактериемия (септицемия), эндокардиты, энтериты, пара- и ректальные абсцессы, пневмонии, инфекции мочевыводящих путей, остеомиелиты и артриты (возбудитель *pseudomonas aeruginosa*).

Кроме прямого антагонизма относительно патогенной, условно – патогенной и гнилостной микрофлоры бактерии *Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В 7092, *Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В 7048 и *Bacillus licheniformis* штамм ВКПМ В 7038 обладают способностью оптимизировать функции иммунной системы человека и животных.

Установлено, что бактерии *Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В 7092, *Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В 7048 и *Bacillus licheniformis* штамм ВКПМ В 7038 являются природными индукторами интерферонов, то есть активно стимулируют в организме образование собственных эндогенных интерферонов ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$  и др. – типов).

### **3. С помощью стимуляции бета-дефензинов**

Дефензины - это антимикробные катионные пептиды, которые являются частью врожденной иммунной системы позвоночных организмов. Они состоят из различных аминокислот, в том числе из 6 цистеиновых эволюционно консервативных остатков, образующих 3 дисульфидных мостика (рис. 2). Бета-дефензины могут вырабатываться эпителиальными клетками, а также определенными белыми кровяными клетками (нейтрофильными гранулоцитами, макрофагами и др.)

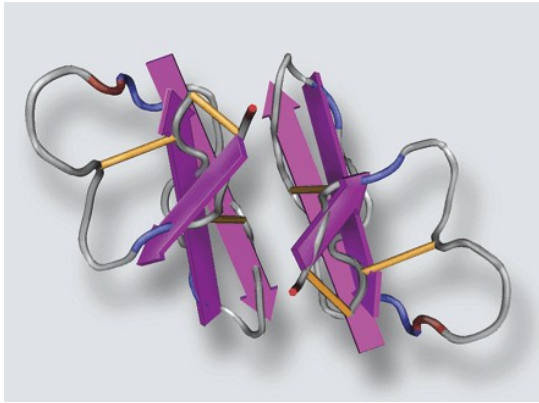


Рис. 2: Структура молекулы бета-дефензина

Принцип работы дефензинов заключается в прикреплении непосредственно к клеточной мембране патогена и углублении в нее, что приводит к порообразным разрывам и последующему уничтожению нежелательного микроорганизма. Кроме того, дефензины останавливают некоторые вирусы от проникновения вглубь эпителия, предотвращая слияние вирусной оболочки с клеточной мембраной потенциального носителя. Существуют различные виды дефензинов. Они могут быть конститутивными, индуцибельными, а также образовывать соединения с различными типами клеток. Распределение дефензинов в организме зависит от распределения цистеиновых остатков и дисульфидных мостиков. Дефензины человека по отличиям в структуре подразделяют на две группы:

- Альфа-дефензины

Альфа-дефензины - это группа дефензинов, которые содержатся в основном в нейтрофилах, некоторых типах макрофагов и клетках Панета, обеспечивающих антибактериальную защиту тонкой кишки.

- Бета-дефензины

Бета-дефензины вырабатываются лейкоцитами и эпителиальными клетками, в том числе и клетками кожи. Стоит отметить, что следующие типы бета-дефензинов (hBD - от англ. "human  $\beta$ -defensin") участвуют в процессе защиты кожи от воздействий внешней агрессивной среды:

- hBD1 - так называемый конститутивный дефензин;
- hBD3 - дефензин, обладающий самым широким бактерицидным спектром, т.е. активный в отношении большого количества различных бактерий, грибов;
- hBD2 и hBD4 проявляют активность по отношению к патогенам, проникшим в организм, именно поэтому их совместное действие наиболее выражено в ответ на определенные микробные раздражители. hBD2 вырабатывается преимущественно в верхних слоях эпидермиса.

Помимо их антимикробного действия, дефензины обладают способностью привлекать тучные клетки (также известные, как мастоциты или лаброциты) благодаря хемотаксической активности, а затем вызывать их дегрануляцию. При дегрануляции тучных клеток биологически активные вещества – медиаторы – секретируются клетками наружу; в норме этот механизм способствует формированию защитной воспалительной реакции.

Кроме того, дефензины способны увеличивать уровень концентрации нейтрофилов, моноцитов, дендритных клеток и эффекторных Т-лимфоцитов – Т-хелперов и Т-киллеров, ответственных непосредственно за иммунный ответ на проникновение патогенов в организм.

*Дефензины присутствуют в секрете, вырабатываемом сальными железами, и потому участвуют и в процессе регуляции кожной микрофлоры, в особенности, регуляции численности бактерии *Propionibacterium acnes*. В этом случае они не только оказывают антимикробное действие в отношении *P.acnes*, но и стимулируют и регулируют приобретенный иммунитет путем увеличения количества Т-лимфоцитов и нейтрофилов [I.Nagy, A.Pivarcsi J. Invest. Dermatol 2005, 124: стр. 931-938]. Таким образом, была отмечена прямая связь между дефицитом дефензинов данного типа и появлением разнообразных проблем с кожей. Более того, некоторые научные исследования показывают, что бета-дефензины (hBD2-hBD4) могут принимать непосредственное участие и в процессах заживления.*

Важнейшая роль дефензинов, которую они выполняют, являясь неотъемлемым элементом системы защиты кожи, определяет значимость стимуляции их выработки.

В настоящее время пробиотики становятся широко известны благодаря своей способности стимулировать выработку генов, кодирующих дефензины. Однако, точный механизм действия пробиотиков до сих пор до конца не изучен. Предполагается, что пробиотики способны “обманывать” клеточные рецепторы, т.е. имитировать присутствие нежелательных микроорганизмов, тем самым стимулируя выработку дефензинов для скорейшего восстановления нормальной микрофлоры.

**УЛУЧШЕНИЕ ВНЕШНЕГО ВИДА И СОСТОЯНИЯ КОЖИ**

50% женщин и 30% мужчин в развитых странах страдают от дискомфорта, вызванного нарушениями кожной микрофлоры. Подобные нарушения характеризуются сухостью кожи и периодическим появлением ощущения стянутости, покалывания; также они могут часто сопровождаться покраснением кожи. Все эти симптомы, разумеется, негативно влияют на самочувствие человека.

Комфортное состояние кожи - это крайне субъективное понятие, связанное в основном с различиями в восприятии мужчин и женщин. Совершенно очевидно, что если человек заботится о своей коже, а в частности, о кожной микрофлоре, предохраняя ее от истощения и своевременно нормализуя, здоровый внешний вид его кожи, ее упругость и гладкость будут говорить и о внутреннем благополучии.

К сожалению, состояние кожи может ухудшаться достаточно быстро и неожиданно, вызывая длительные периоды дискомфорта.

### **ПРИЧИНЫ:**

Увеличение количества агрессивных воздействий, связанных как с проявлениями внешней среды, так и с образом жизни человека (например, в случае злоупотребления гигиеническими средствами), вызывает нарушения в работе защитного механизма кожи. Тогда роговой слой кожи становится чрезвычайно уязвимым и, как следствие, уже не может с прежней эффективностью удерживать патогены от проникновения в организм. В ответ на присутствие нежелательных микроорганизмов активируются защитные реакции, которые ускоряют процесс старения кожи.

### **ПОСЛЕДСТВИЯ:**

Микрорельеф кожи перестает быть целостным, и потому кожа становится сухой и может шелушиться и даже трескаться, из-за чего человек подвергается физическому и моральному дискомфорту.

Следовательно, нельзя недооценивать важность принятия необходимых мер против вышеперечисленных факторов риска - стимуляции естественных защитных механизмов - не только для восстановления баланса микрофлоры, но и для улучшения внешнего вида кожи.



#### 4. Косметическое действие

PiP Крем с Пробиотиками - это уникальное косметическое средство на основе комплекса  $\beta$ -фруктоолигосахаридов (FOS),  $\alpha$ -глюкоолигосахаридов (GOS) и дезактивированных пробиотических бактерий, которое обеспечивает интенсивный уход; стимулирует естественные защитные механизмы кожи, в том числе и ее иммунную систему; и, наконец, нормализует и поддерживает микрофлору кожи в целом, влияя на микробиологический, физический и биологический барьеры.

#### IV. ДЕМОНСТРАЦИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ

1. Стимуляция благоприятной кожной микрофлоры путем биоселективной ассимиляции

Основное положение:

Целью данного исследования является изучение степени ассимиляции, т.е. усвоения  $\alpha(1-2)$ ,  $(1-6)$ -глюкоолигосахаридов (GOS) различными культурами бактерий, выделенными с поверхности кожи

*Протокол:*

Образцы культур, выделенных с поверхности кожи были предоставлены Институтом Пастера, где они выращивались на среде, состав и свойства которой максимально приближены к естественной, в присутствии  $\alpha$ -GOS



или глюкозы в концентрации 0.5%, либо в присутствии бактерий рода *Bacillus subtilis* в концентрации 3%.

Бактериальные культуры были выращены в двух экземплярах.

После 48 часов нахождения на питательной среде остаточное содержание субстрата (в данном случае - глюкозы) количественно оценивалось с помощью метода жидкостной хроматографии.

Конечные данные:

В зависимости от полученной степени усвоения, значения были распределены следующим образом:

Степень усвоения сахара	Оценка
0-20%	-
20-40%	+
40-60%	++
60-100%	+++

Таким образом, полученные значения указывают на возможность использования сахаров в качестве источника углерода для выращивания культур и, в частности, для их быстрого размножения в лабораторных условиях.

Результаты приведены в таблице ниже.

*Биоселективная (избирательная) ассимиляция исследуемого  
α-глюкоолигосахарид*

Сапрофитные микроорганизмы	α-глюкоолигосахарид	Диапазон нормальных значений глюкозы
<i>Micrococcus kristinae</i>	+++	+++
<i>Micrococcus lylae</i>	-	НО
<i>Micrococcus sedentarius</i>	+	-
<i>Staphylococcus capitis</i>	+	+++
<i>Corynebacterium xerosis</i>	++	+++

<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	-	-
<i>bacillus subtilus</i>	+++	+++

Патогенные микроорганизмы	$\alpha$ -глюкоолигосахарид	Диапазон нормальных значений глюкозы
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+++
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	-	+++
<i>Propionibacterium acnes</i>	-	+++
<i>Gardnerella vaginalis</i>	-	+

Условно-патогенные микроорганизмы	$\alpha$ -глюкоолигосахарид	Диапазон нормальных значений глюкозы
<i>Propionibacterium granulosum</i>	-	-
<i>Staphylococcus warneri</i>	+	++
<i>Staphylococcus simulans</i>	+	-
<i>Staphylococcus xylosus</i>	+	-

(НО: Не Определен)

Исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид является превосходным источником углерода для большинства протестированных сапрофитных микроорганизмов, в то время как патогенные и условно-патогенные микроорганизмы усваивают его в значительно меньшей степени, либо не усваивают вовсе.

#### **ВЫВОД:**

Исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид проявляет биоселективные свойства, положительно влияя на рост благоприятной микрофлоры.

Активно используется благоприятной микрофлорой в процессе ассимиляции, что идет в ущерб патогенной микрофлоре.

## 2. Не усвоение нежелательными микроорганизмами

Основное положение:

Целью данного исследования является оценка способности  $\alpha(1-2),(1-6)$ -глюкоолигосахарида выступать в роли субстрата для роста двух видов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в частности, дрожжей.

Протокол:

Исследованные дрожжевые культуры:

- *Candida albicans* (возбудитель влагалищных инфекций)
- *Malassezia furfur* (возбудитель себореи, ранее известный как *Pityrosporum ovale*)

Исследованные концентрации  $\alpha$ -глюкоолигосахарида: 0.5 и 1%.

Были проведены следующие тесты:

- Инкубация дрожжей на питательной среде с триптонной солью в течение 24 часов при температуре 35°C в присутствии  $\alpha$ -глюкоолигосахарида или же без него;
- Подсчет общего количества дрожжей на питательной среде агар Сабуро после внесения 1 мл полученной ранее суспензии.

Каждый из тестов был проведен повторно.

Результаты:

Предварительный контроль:

- Подтверждение жизнеспособности культуры на соответствующей питательной среде при отсутствии  $\alpha$ -глюкоолигосахарида;
- Подтверждение нейтрального действия разбавителя (триптоновой соли) на рост дрожжевых культур.

Результаты приведены в таблице ниже.

	Начальное кол-во микроорганизмов	$\alpha$ -глюкоолигосахарид в концентрации 0.5%	$\alpha$ -глюкоолигосахарид в концентрации 1%
<i>Candida albicans</i>	$16 \cdot 10^6$	$2.2 \cdot 10^6$	$2.3 \cdot 10^6$
<i>Malassezia furfur</i>	$5.5 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$

## ВЫВОД:

Исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид не имеет влияния на рост:

- *Candida albicans*
- *Malassezia furfur*

Таким образом, исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид может быть использован в качестве компонента в средствах личной гигиены и средствах для волос, поскольку он не влияет на рост патогенной или условно-патогенной флоры. Более того, его применение поможет не только защитить, но и укрепить микрофлору кожи головы человека и слизистых влагалища.

### 3. Конкуреннтное ингибирование роста микроорганизмов

Основное положение:

Данное исследование заключается в оценке влияния  $\alpha(1-2),(1-6)$ -глюкоолигосахарид на рост смешанной культуры - и сапрофитных, и патогенных/условно-патогенных бактерий одновременно.

Протокол:

Бактерии помещаются на питательную среду (триптонно-соевый агар), содержащую  $\alpha$ -глюкоолигосахарид в концентрации 0,5%.

Спустя 24 часа роста производится подсчет количества бактерий на определенной среде:

- для подсчета общего количества бактерий - питательный агар для подсчета микроорганизмов (РСА);
- для подсчета *Staphylococcus aureus* - агар Чепмена-Стоуна;
- для подсчета *Corynebacterium xerosis* - сердечно-мозговой агар (ВНІ).

Смешанная культура №1:

- *Staphylococcus aureus* (патогенные бактерии);
- *Micrococcus kristinae* (полезные сапрофитные бактерии)

Тесты проводились трижды, поэтому было рассчитано среднее значение.

Смешанная культура №2:

- *Corynebacterium xerosis* (условно-патогенные сапрофитные бактерии, которые при высокой концентрации способны вызывать неприятный запах, особенно в области подмышек);
- *Micrococcus kristinae* (полезные сапрофитные бактерии)

Результаты:

а. Смешанная культура №1:

Сравнение *Micrococcus kristinae* со *Staphylococcus aureus*

- Начальный посев  $10^6$  клеток / мл и подсчет после 24 часов нахождения на питательной среде:

	ОБЩЕЕ КОЛИЧЕСТВО	S. AUREUS	M. KRISTINAE
Тест 1	$10^8$	$< 3.7 \cdot 10^4$	$> 10^7$
Тест 2	$3.7 \cdot 10^8$	$< 5 \cdot 10^5$	$> 5 \cdot 10^7$
Тест 3	$10^8$	$< 5 \cdot 10^4$	$> 10^7$

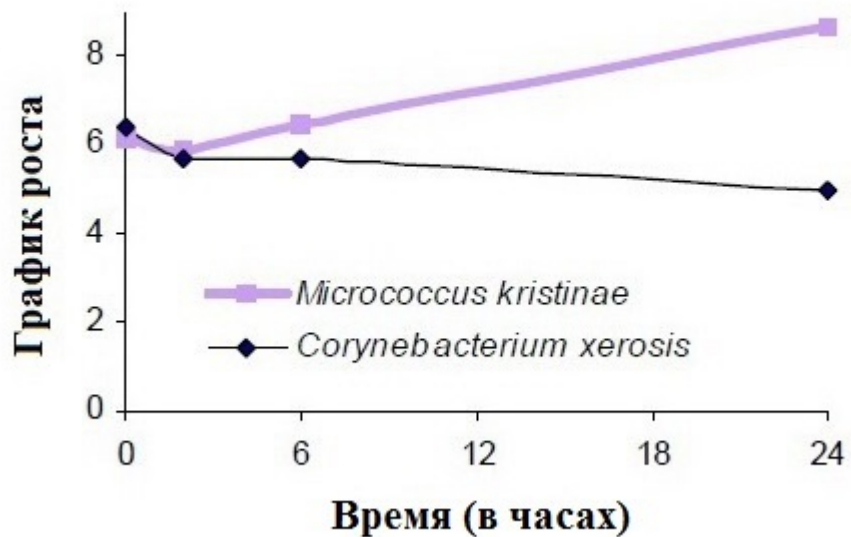
В таблице показано, что исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид, благодаря своим биоселективным свойствам, положительно влияет на рост *Micrococcus kristinae* в ущерб росту *Staphylococcus aureus*.

в. Смешанная культура №2:

Сравнение *Micrococcus kristinae* с *Corynebacterium xerosis*

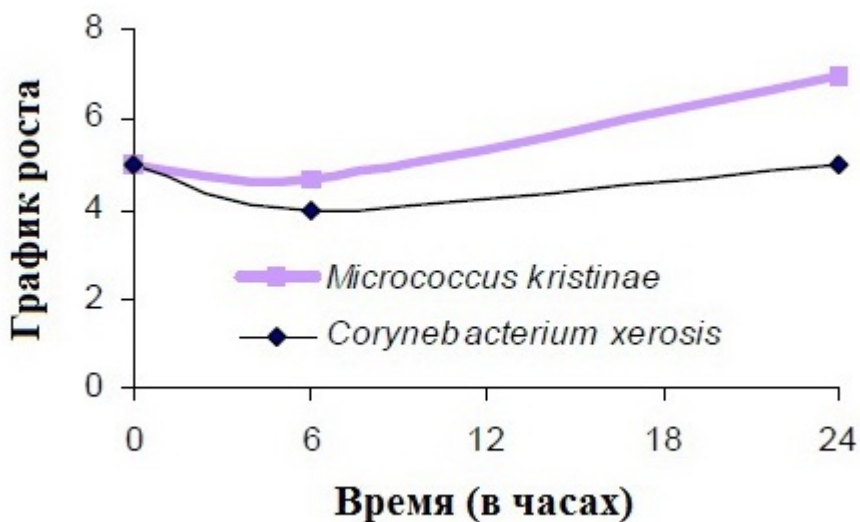
- Начальный посев  $10^6$  клеток / мл и подсчет после следующего времени нахождения на питательной среде:

ВРЕМЯ ИНКУБАЦИИ	Начальное кол-во микроорганизмов	2 часа	6 часов	24 часа
<i>Corynebacterium xerosis</i>	$2.4 \cdot 10^6$	$1.4 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^5$	$9.0 \cdot 10^4$
<i>Micrococcus kristinae</i>	$1.4 \cdot 10^6$	$8.2 \cdot 10^5$	$3.1 \cdot 10^6$	$5.1 \cdot 10^8$



- Начальный посев  $10^5$  клеток / мл и подсчет после следующего времени нахождения на питательной среде:

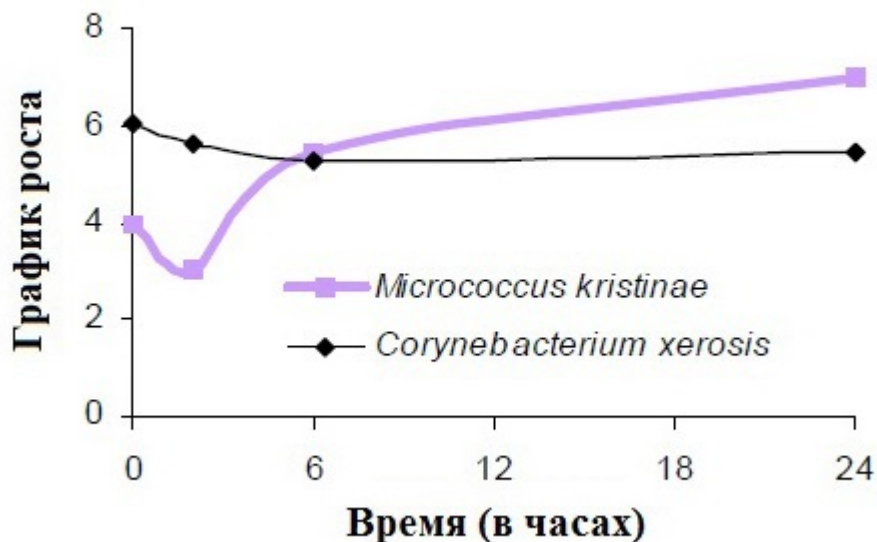
ВРЕМЯ ИНКУБАЦИИ	Начальное кол-во микроорганизмов	6 часов	24 часа
<i>Corynebacterium xerosis</i>	$1.0 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^5$
<i>Micrococcus kristinae</i>	$1.0 \cdot 10^5$	$5.0 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^7$



Полученные результаты показывают, что исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид преимущественно способствует росту бактерий *Micrococcus kristinae* в ущерб бактериям *Corynebacterium xerosis*, рост которых существенно замедляется или прекращается вовсе. В этом случае конкурентное ингибирование является результатом биоселективной ассимиляции  $\alpha$ -глюкоолигосахаридов бактериями *Micrococcus kristinae*.

- Посев обеих культур в разной концентрации (в пользу нежелательной флоры) и подсчет после следующего времени нахождения на питательной среде:
  - *Micrococcus kristinae*:  $10^4$  клеток / мл;
  - *Corynebacterium xerosis*:  $10^6$  клеток / мл.

ВРЕМЯ ИНКУБАЦИИ	Начальное кол-во микроорганизмов	2 часа	6 часов	24 часа
<i>Corynebacterium xerosis</i>	$1.1 \cdot 10^6$	$4.1 \cdot 10^5$	$2.0 \cdot 10^5$	$3.0 \cdot 10^5$
<i>Micrococcus kristinae</i>	$1.0 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^3$	$3.0 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^7$



Несмотря на более высокую начальную концентрацию *Corynebacterium xerosis*, культура бактерий *Micrococcus kristinae* не только избирательно усвоила исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид, но и стала количественно преобладать на данной питательной среде по прошествии 24 часов.

**ВЫВОД:**

Подтверждена биоселективность в отношении роста благоприятной микрофлоры. Также рассмотрена эффективность ингибирования, т.е. подавления роста патогенной или условно-патогенной микрофлоры во время конкуренции с благоприятной микрофлорой.

Благодаря своей способности подавлять рост *Corynebacterium xerosis* или *Staphylococcus aureus*, бактерий, ответственных за возникновение неприятных запахов, исследуемый  $\alpha$ -глюкоолигосахарид представляет большой интерес для использования в гигиенических средствах, в частности - в дезодорантах, для укрепления, восстановления и стимуляции подмышечной микрофлоры.

#### 4. Стимуляция выработки гена, кодирующего бета-дефензин 2

Основное положение:

Данный тест представляет собой демонстрацию способности PiP Крема с Пробиотиками стимулировать выработку гена, кодирующего бета-дефензин 2, на модели кожи.

Протокол:

Количественный анализ производится методом ПЦР (полимеразной цепной реакции) после 72 часов с момента обработки модели 0.3% PiP Кремом с Пробиотиками; таким же образом производится количественная оценка модели необработанного контроля.



- Процесс инкубации

В самом начале модель кожи подвергают предварительной обработке в течение ночи, выдерживая ее в соответствующей среде при постоянной температуре 37°C в присутствии 5% CO<sub>2</sub> (диоксида углерода). Затем питательную среду заменяют, нанося на модель кожи среду, в составе которой присутствуют либо отсутствуют тестируемые вещества. Инкубация производится в течение 72 часов при постоянной температуре 37°C в присутствии 5% CO<sub>2</sub>.

После завершения процесса инкубации модель кожи промывается раствором натрий-фосфатного буфера (PBS) и незамедлительно замораживается при температуре –80°C с добавлением 1 мл тризола для дальнейшего анализа методом ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией).

- ОТ-ПЦР

Выработка следующих генов определяется количественно:

- цитоплазмический бета-актин, обозначенный в качестве контрольного маркера как АСТВ (GenBank No.: NM\_001101);

*Примечание: В данном исследовании используется актин, поскольку он является высококонсервативным белком, повсеместно вырабатываемым эукариотическими клетками. Уровень выработки актина не зависит от внешних условий; следовательно, он будет в определенной степени пропорционален количеству клеток.*

- бета-дефензин 2, обозначенный как hBD2 (антимикробный пептид 1 (SAP1) – HBD2 – NM\_004942).

В соответствии со следующим протоколом:

- Экстракция общей РНК исследуемого материала;
- Очищение ДНК исследуемого материала от примесей (постороннего ДНК либо других веществ) путем расщепления рестриктирующими эндонуклеазами;
- Обратная транскрипция информационной РНК в присутствии олиго(dT) и обратной транскриптазы Superscript II для получения комплементарной ДНК.
- Амплификация комплементарной ДНК бета-дефензина и актина методом ПЦР в присутствии специфических праймеров, соответствующих исследуемым генам и раствору флуоресцентного маркера SYBR Green I.

Включение флуоресценции в амплифицированной ДНК непрерывно измеряется во время выполнения циклов ПЦР. Рассчитывается

интенсивность флуоресценции по сравнению с числом циклов ПЦР; полученное значение называется значением относительной экспрессии (RE) каждого маркера.

Значение относительной экспрессии выражается в произвольных единицах измерения (AU) в соответствии с формулой:

$$(1/2 \text{ числа циклов}) \times 10^6$$

Результаты:

Испытательные концентрации, выбранные для формулы РiР Крема с Пробиотиками, составляют 3 мг/мл (0.3%), 1 мг/мл (0.1%) и 0.3 мг/мл (0.03%).

*Примечание: В этой таблице, вместо данных об экспрессии актина, представлены данные об экспрессии гена, представляющего особый интерес (бета-дефензин 2), с целью демонстрации значения относительной экспрессии данного гена. Таким образом, преодолевается разница в количестве клеток, присутствующая в ряде обработанных образцов.*

		RE*АКТВ (AU)	RE*HBD2 (AU)	HBD2/ АКТВ	% КОНТРОЛЬ
<b>Контроль</b>	-	1.733	0.628	0.363	100
РiР Крем	3 мг/мл	2.209	1.191	0.540	149
	1 мг/мл	1.988	0.810	0.411	113
	0.33 мг/мл	2.328	0.983	0.422	116

**ВЫВОД:**

0.3% РiР Крем с Пробиотиками стимулирует экспрессию гена, кодирующего бета-дефензин 2, на 50%.

## 5. Изучение реструктурирующего, питательного и разглаживающего эффектов

Комфортное состояние кожи - это субъективное ощущение, поэтому оно не может быть количественно определено с помощью физических измерений. Однако, исходя из принципа, что нарушения микрофлоры кожи проявляются в разрушении эпидермиса, т.е. в видимом изменении внешнего вида кожи, очень часто связанном с ее сухостью и шелушением, можно продемонстрировать улучшение общего состояния кожи (визуально и тактильно) после использования РiР Крема с Пробиотиками, который

обладает реструктурирующим, питательным и разглаживающим эффектами.

Основное положение:

Целью данного исследования является демонстрация реструктурирующего, питательного и разглаживающего эффектов PiP Крема с Пробиотиками (см. формулу в приложении), а также субъективная оценка уменьшения дискомфорта кожи по сравнению с действием плацебо (см. формулу в приложении).

Протокол:

- День 0 (D0):
  - Добровольцы явились в лабораторию в назначенное время;
  - Определение двух областей исследования: участок кожи на одной ноге будет обработан PiP Кремом с Пробиотиками, на другой - кремом-плацебо (таким образом, все добровольцы одновременно тестируют два средства, требующих исследования);
  - Получение изображений, сделанных видеомикроскопом, для демонстрации визуального эффекта на двух установленных участках кожи;
  - Взятие силикагелевого отпечатка рельефа двух установленных участков кожи для дальнейшего анализа путем лазерной профилометрии;
  - Распределение исследуемых средств между добровольцами, которые будут наносить указанные средства на каждую ногу два раза в день в течение 28 дней.
  
- День 28 (D28):
  - Получение изображений, сделанных видеомикроскопом, для демонстрации визуального эффекта на двух установленных участках кожи;
  - Взятие силикагелевого отпечатка рельефа двух установленных участков кожи для дальнейшего анализа путем лазерной профилометрии;
  - Заполнение добровольцами анкеты для субъективного оценивания.

Результат:

- Реструктурирующий/разглаживающий эффект:  
Использованные методы (отпечаток, лазерная профилометрия) предназначены для учета всех аспектов рельефа кожи, что позволяет вывести геометрические параметры микрорельефа, такие как:

- сложность рельефа поверхности кожи, характеризующаяся наличием множества “трещин” - мелких и крупных кожных складок (в %);
- средняя глубина микротрещин в микрорельефе (в мкм)
  - *Разглаживающий эффект* проявляется в виде сокращения количества и глубины микротрещин.
- изотропия (в %)
  - *Реструктурирующий эффект* проявляется в виде возрастания уровня изотропии, т.е. однородности кожи.

#### КОММЕНТАРИЙ:

Говоря о преждевременном старении кожи, достаточно привести следующую аналогию: тусклая, уставшая, теряющая упругость кожа подобна неограненному алмазу, лишенному всяческого блеска. Обновленная же, искрящаяся здоровьем кожа сияет, словно бриллиант.

Ниже приводится краткая информация о полученных результатах.

Важно отметить, что были проанализированы результаты только 15 из 20 добровольцев. Результаты 5 добровольцев-исследователей не могли быть учтены, поскольку данные, зафиксированные для одного или нескольких параметров, были далеки от среднего значения.

- Крем-плацебо:

Добровольцы	D0			D28			D28-D0		
	Сложность	Глубина	Изотропия	Сложность	Глубина	Изотропия	Сложность	Глубина	Изотропия
2	1.99	24.94	60.69	1.85	22.95	47.48	-0.14	-1.99	-13.21
4	1.28	15.40	61.61	2.13	20.67	58.74	0.85	5.27	-2.87
6	1.38	18.29	44.03	1.93	31.83	20.19	0.55	13.54	-23.85
7	1.09	16.94	38.61	1.16	24.83	33.90	0.07	7.89	-4.71
8	2.81	25.26	68.74	4.12	33.91	51.32	1.3	8.65	-17.42
11	1.58	21.13	32.76	1.75	21.96	59.18	0.17	0.83	26.43
12	2.99	31.17	10.63	1.69	24.91	42.42	-1.31	-6.25	31.78
13	1.60	20.47	19.80	1.68	22.54	20.09	0.09	2.06	0.29
14	3.42	31.51	62.35	1.45	17.03	50.23	-1.96	-14.48	-12.12
15	2.88	27.08	77.58	1.21	17.41	70.63	-1.67	-9.67	-6.96
16	1.76	24.87	49.08	1.54	22.27	24.27	-0.23	-2.61	-24.81
17	3.06	42.83	28.30	2.45	35.27	15.53	-0.61	-7.56	-12.77
18	1.31	22.41	46.25	1.17	16.61	62.18	-0.15	-5.8	15.93
19	1.95	18.58	13.28	3.32	25.11	42.16	1.37	6.53	28.88
20	1.50	17.34	50.68	0.89	12.22	19.63	-0.61	-5.12	-31.05
<b>В среднем</b>	<b>2.04</b>	<b>23.88</b>	<b>44.29</b>	<b>1.89</b>	<b>23.20</b>	<b>41.20</b>	<b>-0.15</b>	<b>-0.58</b>	<b>-3.10</b>
<b>СЭМ</b>	<b>0.20</b>	<b>1.86</b>	<b>5.25</b>	<b>0.22</b>	<b>1.67</b>	<b>4.64</b>	<b>0.25</b>	<b>2.02</b>	<b>5.20</b>
<b>Δ% D0</b>							<b>-7%</b>	<b>-2%</b>	<b>-7%</b>
<b>% добровольцев с лечебным эффектом</b>							<b>53%</b>	<b>53%</b>	<b>33%</b>

\* СЭМ - сканирующая электронная микроскопия

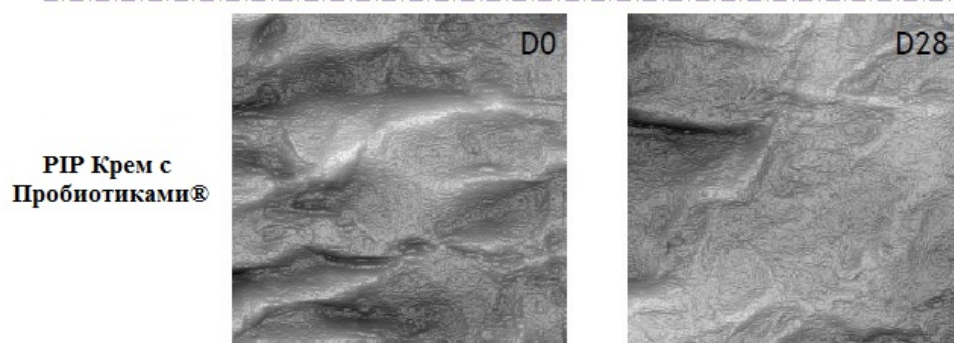
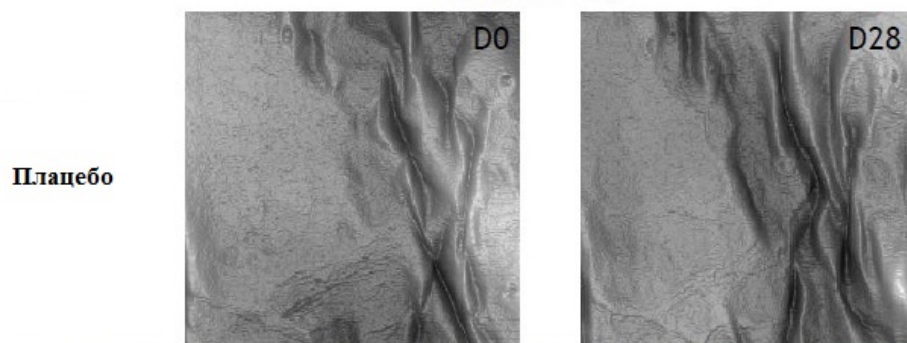
- РiР Крем с Пробиотиками

Добровольцы	D0			D28			D28-D0		
	Сложность	Глубина	Изотропия	Сложность	Глубина	Изотропия	Сложность	Глубина	Изотропия
2	1.05	25.34	18.52	0.72	16.50	78.29	-0.33	-8.85	59.76
4	1.19	16.07	54.41	1.55	21.46	31.90	0.36	5.39	-25.5
6	2.35	24.38	70.19	1.46	19.13	49.97	-0.90	-5.26	-20.22
7	3.00	27.66	29.95	3.38	31.28	62.03	0.38	3.63	32.08
8	3.09	24.86	59.58	2.68	24.30	33.25	-0.42	-0.56	-26.33
11	1.08	16.85	45.03	0.91	14.09	69.80	-0.17	-2.76	24.77
12	0.98	19.75	46.45	1.14	18.82	46.38	0.16	-0.93	-0.08
13	3.89	44.88	32.42	3.30	39.12	10.25	-0.59	-5.76	-22.18
14	1.47	22.74	24.14	1.59	19.11	29.83	0.12	-3.62	5.70
15	3.18	29.83	65.37	1.22	17.76	53.33	-1.97	-12.07	-12.04
16	2.80	33.67	34.37	1.77	22.56	42.30	-1.03	-11.11	7.93
17	3.75	40.74	15.92	2.20	29.75	19.03	-1.55	-11.00	3.11
18	2.11	27.65	64.35	0.70	17.80	57.53	-1.41	-9.85	-6.81
19	1.47	14.52	75.39	0.65	15.04	53.69	-0.81	0.52	-21.7
20	0.85	16.77	30.05	0.84	14.54	85.05	0.00	-2.24	54.99
<b>В среднем</b>	<b>2.04</b>	<b>23.88</b>	<b>44.29</b>	<b>1.89</b>	<b>23.20</b>	<b>41.20</b>	<b>-0.54</b>	<b>-4.30</b>	<b>3.57</b>
<b>СЭМ</b>	<b>0.20</b>	<b>1.86</b>	<b>5.25</b>	<b>0.22</b>	<b>1.67</b>	<b>4.64</b>	<b>0.19</b>	<b>1.41</b>	<b>7.26</b>
<b>Δ% D0</b>							<b>-25%</b>	<b>-17%</b>	<b>8%</b>
<b>% добровольцев с лечебным эффектом</b>							<b>73%</b>	<b>80%</b>	<b>47%</b>

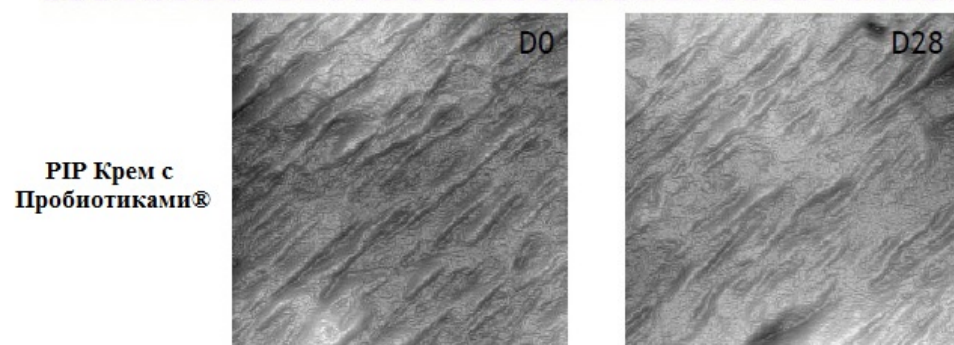
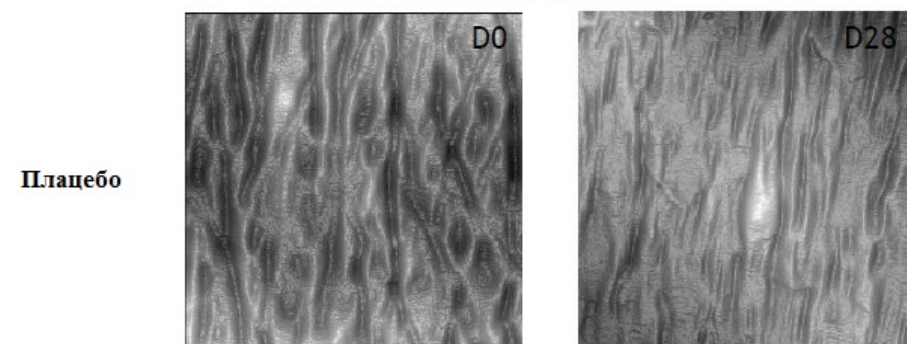
Демонстрация:

Разглаживающий эффект, проявляющийся в виде сокращения количества микротрещин

**Доброволец №2**



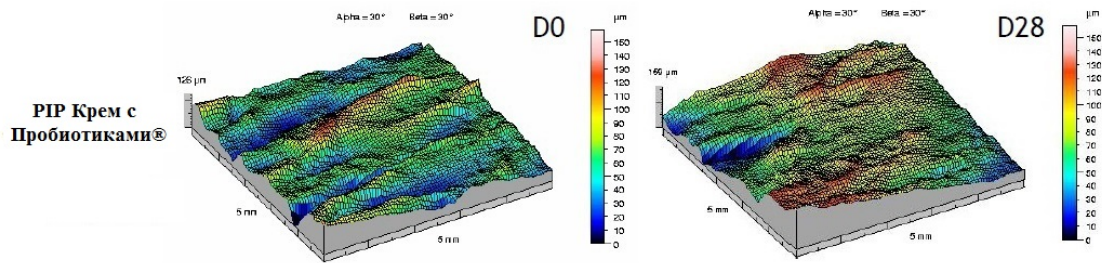
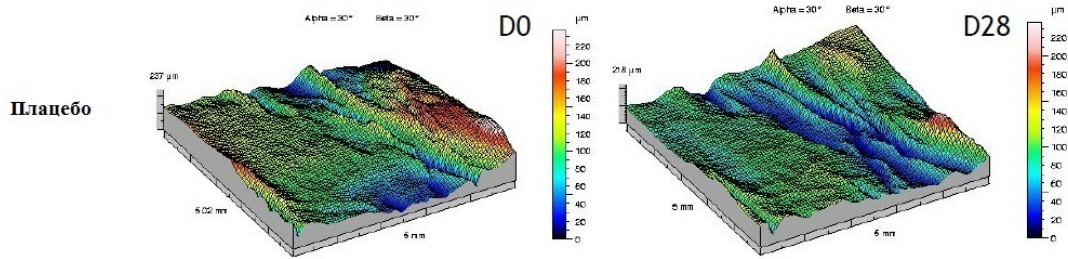
**Доброволец №11**



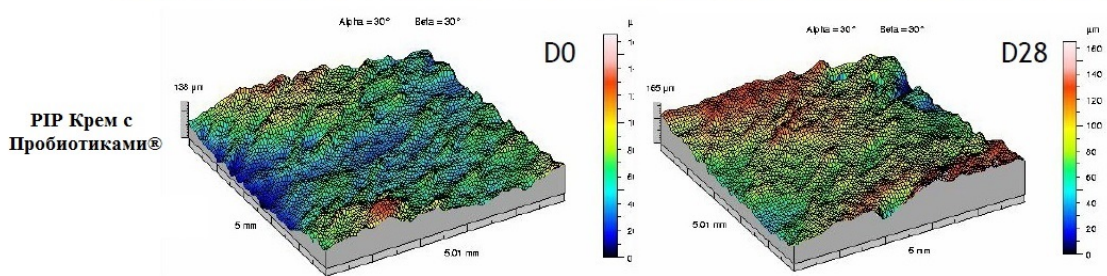
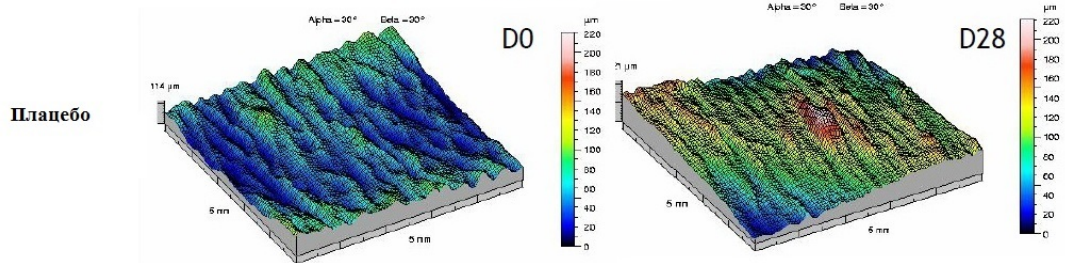
- Разглаживающий эффект, проявляющийся в виде сокращения глубины микротрещин



### Доброволец №2



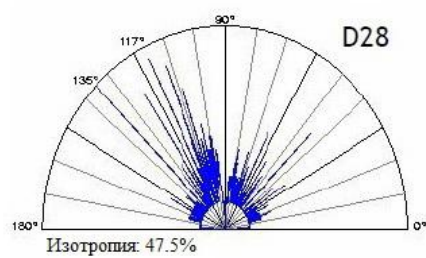
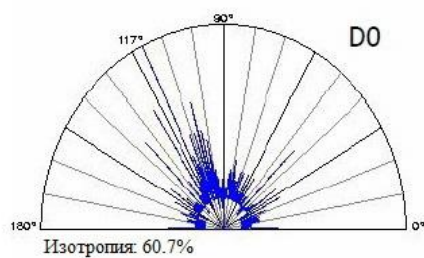
### Доброволец №11



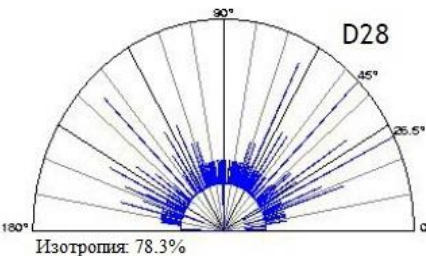
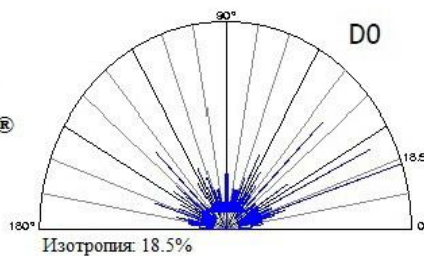
- Реструктурирующий эффект, проявляющийся в виде возрастания уровня изотропии, т.е. однородности кожи.

**Доброволец №2**

**Плацебо**

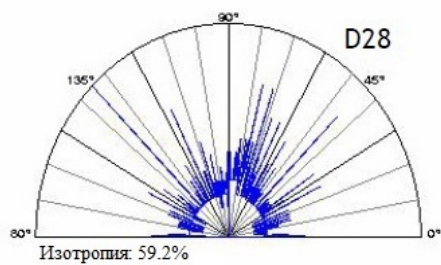
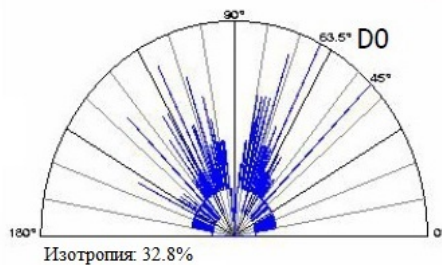


**РІР Крем с  
Пробиотиками®**

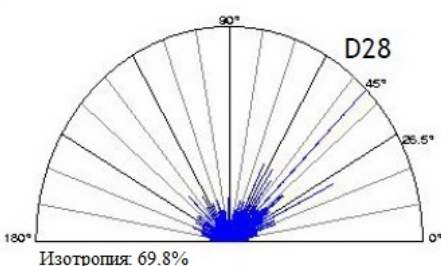
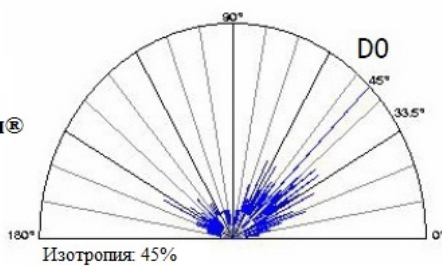


**Доброволец №11**

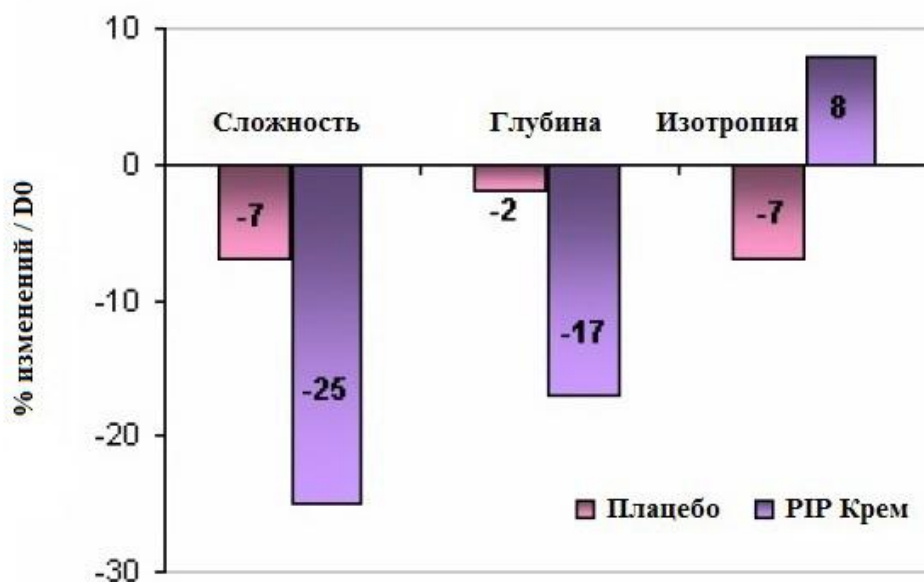
**Плацебо**



**РІР Крем с  
Пробиотиками®**







#### Выводы:

После 28 дней использования PiP Крема с Пробиотиками:

- Количество микротрещин в микрорельефе сокращено на 25%;
- Глубина микротрещин сокращена на 17%, кожа визуально более гладкая;
- + Уровень изотропии увеличен на 8%, кожа приобретает более здоровый вид, она восстановлена и полна сияния.

#### ВЫВОДЫ:

*По сравнению с кремом-плацебо PiP Крем с Пробиотиками в значительно большей степени сокращает сложность рельефа поверхности кожи и среднюю глубину микротрещин (оказывает разглаживающий эффект), повышает уровень изотропии (оказывает реструктурирующий эффект). С регулярным использованием PiP Крема с Пробиотиками к коже возвращаются ее здоровье и красота.*

- Питательный эффект и сокращение неприятных ощущений:

Одновременно проводились и исследования, направленные на оценку потребительских свойств, в частности, питательной способности крема. Для демонстрации эффективности была проведена макросъемка установленных участков кожи.

Демонстрация:

Доброволец №2

Плацебо

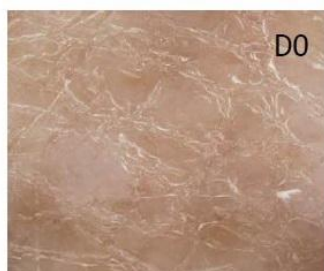


D0



D28

РiP Крем с  
Пробиотиками®



D0



D28

Доброволец №11

Плацебо



D0

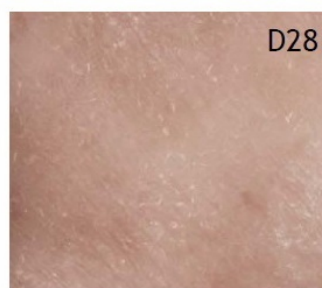


D28

РiP Крем с  
Пробиотиками®



D0



D28

После 28 дней использования РiР Крема с Пробиотиками кожа отлично напитана, шелушения сокращены, отсутствует ощущение стянутости.

**ВЫВОДЫ:**

*PiP Крем с Пробиотиками имеет, помимо прочего, питательный (+32%) и разглаживающий (+41%) эффекты, сокращает неприятные ощущения стянутости и покалывания (-35%), связанные, прежде всего, с чрезмерной сухостью кожи и нарушениями баланса микрофлоры.*

## V. ОСОБЕННОСТИ ФОРМУЛЫ И ПРИМЕНЕНИЯ

### 1. Концентрация

Рекомендуемая концентрация PiP Крема с Пробиотиками составляет от 0,5 (5 мг/мл) до 3% (30 мг/мл) в зависимости от желаемого эффекта.

### 2. Косметическое применение

PiP Крем с Пробиотиками может быть использован для всех типов кожи, ставшей уязвимой из-за избыточного количества агрессивных факторов внешней среды. Это биологически активное средство, обладающее большим восстанавливающим потенциалом и призванное стимулировать естественные защитные механизмы кожи.

Поддержка здорового баланса микрофлоры кожи путем укрепления, восстановления и стимуляции ее роста представляет собой совершенно новый подход к заботе о красоте и здоровье вашей кожи.

Благодаря особой биологически активной формуле PiP Крем с Пробиотиками предназначен для увлажнения и питания всех типов кожи (в том числе и чувствительной), а также для замедления процесса старения кожи. Таким образом, PiP Крем с Пробиотиками может использоваться в качестве:

- базового увлажняющего и восстанавливающего крема;
- питательного крема для чрезмерно сухой кожи;
- тонизирующего крема для молодой кожи, склонной к появлению несовершенств;
- антивозрастного крема для чувствительной кожи.

### 3. Характерные области применения

- кожа лица (питательный, восстанавливающий крем для лица, улучшающий внешний вид и состояние кожи);
- кожа тела (деликатный реструктурирующий и защитный крем для тела).
- 

**PiP Крем для лица**

СОСТАВ	СОГЛАСНО	%
--------	----------	---

	HOMEHKJIATYPE INCI	
<b>Фаза А</b> OLIVEM 1000 (BIOLOGIA ET TECHNOLOGIA) ISOFOL 20 (SASOL) MIGLYOL 812 (SASOL) OLIWAX (BIOLOGIA ET TECHNOLOGIA) DUB PTL (STÉARINERIE DUBOIS) DC 200 V 100 (DOW CORNING) OMEGA 6 CERAMIDE® SAFFLOWER (SOLABIA, SOLABIA GROUP)	<i>Cetearyl olivate / sorbitan olivate</i> <i>Octyldodecanol</i> <i>Caprylic / capric triglyceride</i> <i>Hydrogenated olive oil</i> <i>Pentaerythrityl tetralaurate</i> <i>Dimethicone</i> <i>Safflower oil / Palm oil</i> <i>aminopropanediol esters</i>	3.00 4.00 5.00 2.00 2.00 2.00 0.80
<b>Фаза В</b> DEMINERALISED WATER BUTYLENE GLYCOL KELTROL CG-SFT (CP KELCO)	<i>Aqua</i> <i>Butylene glycol</i> <i>Xanthan gum</i>	Qsp 100 3.00 0.30
<b>Фаза С</b> DEMINERALISED WATER <b>ECOSKIN® (SOLABIA, SOLABIA GROUP)</b>	<i>Aqua</i> <b><i>Alpha-glucan oligosaccharide (and)</i></b> <b><i>Polymnia sonchifolia root juice (and)</i></b> <b><i>Maltodextrin (and) Lactobacillus</i></b>	5.00 <b>1.00</b>
<b>Фаза D</b> SEPIPLUS 265 (SEPPIC)  DC 1403 (DOW CORNING) PEPTISKIN® (SOLABIA, SOLABIA GROUP) NOIR W9001, SOL A 1% (LCW)	<i>Ammonium acrylate and acrylamide</i> <i>copolymer</i> <i>Polyisobutene / Polysorbate 20</i> <i>Dimethicone / dimethiconol</i> <i>Arginine / Lysine polypeptide</i> <i>CI 42051, CI 16185, CI 28440,</i> <i>CI 19140</i>	0.80  1.00 0.50 qsp
<b>Фаза Е</b> PERFUME KARITE INTENSE 0801974	<i>Fragrance</i>	0.20

### РiР Крем для тела

СОСТАВ	СОГЛАСНО HOMEHKJIATYPE INCI	%
<b>Фаза А</b> OLIVEM 1000 (BIOLOGIA ET TECHNOLOGIA) ISOFOL 20 (SASOL) MIGLYOL 812 (SASOL) OLIWAX (BIOLOGIA ET TECHNOLOGIA) DUB PTL (STÉARINERIE DUBOIS)	<i>Cetearyl olivate / sorbitan olivate</i> <i>Octyldodecanol</i> <i>Caprylic / capric triglyceride</i> <i>Hydrogenated olive oil</i> <i>Pentaerythrityl tetralaurate</i>	3.00 4.00 3.00 2.00 2.00

DC 200 V 100 (DOW CORNING) OMEGA 6 CERAMIDE® SAFFLOWER (SOLABIA, SOLABIA GROUP)	<i>Dimethicone</i> <i>Safflower oil / Palm oil</i> <i>aminopropanediol esters</i>	2.00 0.40
<b>Фаза В</b> DEMINERALISED WATER BUTYLENE GLYCOL KELTROL CG-SFT (CP KELCO)	<i>Aqua</i> <i>Butylene glycol</i> <i>Xanthan gum</i>	Qsp 100 3.00 0.30
<b>Фаза С</b> DEMINERALISED WATER <b>ECOSKIN® (SOLABIA, SOLABIA GROUP)</b>  FUCOGEL® 1.5P (SOLABIA, SOLABIA GROUP)	<i>Aqua</i> <i>Alpha-glucan oligosaccharide (and)</i> <i>Polymnia sonchifolia root juice (and)</i> <i>Maltodextrin (and) Lactobacillus</i> <i>Biosaccharide gum-1</i>	5.00 <b>1.00</b>  3.00
<b>Фаза D</b> SEPIPLUS 265 (SEPPIC)  DC 1501 (DOW CORNING) DC 345 (DOW CORNING) BLACK W9001, SOL A 1% (LCW)	<i>Ammonium acrylate and acrylamide</i> <i>copolymer</i> <i>Polyisobutene / Polysorbate 20</i> <i>Cyclomethicone</i> <i>CI 42051, CI 16185, CI 28440,</i> <i>CI 19140</i>	0.30  1.00 2.00 qsp
<b>Фаза E</b> PERFUME KARITE INTENSE 0801974	<i>Fragrance</i>	0.30

## VI. ПРОВЕРКА НА БЕЗОПАСНОСТЬ

ТОЛЕРАНТНОСТЬ КОЖИ IN VIVO <sup>1</sup> Кожная аллергическая проба - средство в концентрации 10% нанесено на небольшой участок кожи на 48 часов Не вызывает раздражения	7 января 2008 г.
ТОЛЕРАНТНОСТЬ КОЖИ IN VITRO <sup>1</sup> МТТ-тест, Prediskin® - средство в концентрации 10% Не вызывает раздражения	26 марта 2008 г.
ТОЛЕРАНТНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗ IN VITRO <sup>1</sup> Нет-Сам-тест - средство в концентрации 10%	17 ноября 2008 г.

Вызывает небольшое раздражение	
МУТАГЕННОСТЬ <sup>2</sup> Тест Эймса - средство в концентрации, соответствующей протоколу Не мутагенно	16 января 2008 г.
ПОВТОРНОЕ ИСПЫТАНИЕ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ КОЖЕ	в процессе выполнения

<sup>1</sup> Тесты проведены контрактно-исследовательской организацией Eurosafe в Сен-Грегуар (Франция)

<sup>2</sup> Тесты проведены контрактно-исследовательской организацией Vivotecnia в Мадриде (Испания)

## VII. ПРИЛОЖЕНИЕ

### ФОРМУЛА КРЕМА-ПЛАЦЕБО

СОСТАВ	СОГЛАСНО НОМЕНКЛАТУРЕ INCI	%
INCROQUAT BEHENYL TMC	<i>Cetearyl alcohol / Behentrimonium</i>	5.00
DC 200 V 100	<i>Dimethicone</i>	2.00
ISOSTEARYL ISOSTEARATE	<i>Isostearyle isostearate</i>	3.00
MIGLYOL 812	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	4.00
DEMINERALISED WATER	<i>Aqua</i>	qs 100
PHENONIP	<i>Phenoxyethanol / methylparaben / ethylparaben / butylparaben / propylparaben / isobutylparaben</i>	0.50
SEPICIDE CI	<i>Imidazolidinylurea</i>	0.20
PERFUME 40120-1	<i>Fragrance</i>	0.10
TEA 50%	<i>Triethanolamine</i>	0.005
FDC RED 40, 0.2% SOLN.	<i>CI 16035</i>	0.05
DC YELLOW 6, 1% SOLN.	<i>CI 15985</i>	0.05

### ФОРМУЛА PIP КРЕМА С ПРОБИОТИКАМИ

СОСТАВ	СОГЛАСНО НОМЕНКЛАТУРЕ INCI	%
INCROQUAT BEHENYL TMC	<i>Cetearyl alcohol / Behentrimonium</i>	5.00
DC 200 V 100	<i>Dimethicone</i>	2.00
ISOSTEARYL ISOSTEARATE	<i>Isostearyle isostearate</i>	3.00

MIGLYOL 812	<i>Caprylic / capric triglyceride</i>	4.00
DEMINERALISED WATER	<i>Aqua</i>	qs 100
PHENONIP	<i>Phenoxyethanol / methylparaben / ethylparaben / butylparaben / propylparaben / isobutylparaben</i>	0.50
SEPICIDE CI	<i>Imidazolidinylurea</i>	0.20
<b>ECOSKIN® (SOLABIA, SOLABIA GROUP)</b>	<b><i>Alpha-glucan oligosaccharide (and) Polymnia sonchifolia root juice (and) Maltodextrin (and) Lactobacillus</i></b>	<b>3.00</b>
PERFUME 40120-1	<i>Fragrance</i>	0.10
TEA 50%	<i>Triethanolamine</i>	0.005
FDC RED 40, 0.2% SOLN.	<i>CI 16035</i>	0.05
DC YELLOW 6, 1% SOLN.	<i>CI 15985</i>	0.05