

Korekce vrásek aplikací botulotoxinu

Martina Fridrichová

Bakalářská práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martina FRIDRICOVÁ**
Osobní číslo: **T09047**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**

Téma práce: **Korekce vrásek aplikací botulotoxinu**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární rešerši na dané téma.
2. Pojednejte o problematice stárnutí kůže, jejich příčinách i důsledcích.
3. Zaměřte se na možnost vyhlazení vrásek pomocí botulotoxinu, na jeho charakterizaci, účinky i samotnou aplikaci.
4. Objektivně zhodnoťte využití botulotoxinu, jako jednu z metod korektivní a estetické dermatologie.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. DAYAN, Nava. Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development. Norwich: William Andrew, 2008. ISBN 08-155-1584-7.
2. PERCIVAL, Steven L. Microbiology and aging clinical manifestations. USA: Springer, 2009. ISBN 978-159-7453-271.
3. DRAELOS, Zoe D. Cosmetic dermatology: Products and procedures. 1.vyd. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010. ISBN 978-1-4051-8635-3.
4. LIPHAM, William. J. Cosmetic and clinical applications of botox and dermal fillers. 2.vyd. Thorofare: SLACK, 2008. ISBN 15-564-2796-4.
5. DE MAIO, Mauricio a Berthold RZANY. Botulinum toxin in aesthetic medicine. Berlin: Springer, 2007. ISBN 978-3-540-34094-2.
6. BENEDETTO, Anthony V. Botulinum toxin in clinical dermatology. United Kingdom: Taylor & Francis, 2006. ISBN 0-203-49505-5.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Markéta Jančíková

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

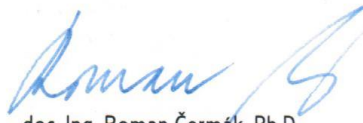
Datum zadání bakalářské práce:

24. února 2012

Termín odevzdání bakalářské práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 24. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

děkan





doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.

ředitel ústavu

Příjmení a jméno: MARTINA FRIDRICHOVÁ

Obor: Technologie výroby tuků,
kosmetiky a detergentů

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 21.5.2012


.....

²¹ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²² zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezahnuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

²³ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na možnost využití botulotoxinu ke korekci vrásek. Jedná se o literární rešerši, ve které jsou předloženy doposud opublikované poznatky na dané téma. V první části je pojednáno o procesu stárnutí kůže. Podrobněji jsou zde také popsány změny, ke kterým v jednotlivých vrstvách kůže dochází a jsou příčinou vzniku vrásek. Převážná část práce je pak věnována charakteristice botulotoxinu, mechanismu účinku i samotné aplikaci. Není zde zapomenuto ani na případné komplikace, jež s použitím botulotoxinu souvisí. V poslední části je předložena problematika, týkající se vlivu botulotoxinu na lidský organismus i další negativa spojená s jeho dlouhodobou aplikací.

Klíčová slova: stárnutí kůže, vrásky, botulotoxin, aplikace botulotoxinu

ABSTRACT

This bachelor thesis is dealing with the possibilities of using botulinum toxin for wrinkle correction. It is a literature search for to date published information on given topic. The first part is dealing with the process of skin ageing. The changes in each of skin layer causing the wrinkles are described in details. The biggest part of the work is dedicated to the botulinum toxin characterization, its mechanisms and the application itself. Also the possible complications related to botulinum toxin usage are mentioned here. In the last part there is posed the issue of effects of botulinum toxin on human organism and other possible negatives connected with its long-lasting application.

Keywords: skin ageing, wrinkles, botulinum toxin, application of botulinum toxin

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce, Ing. Markétě Jančíkové, za cenné rady, názory, věcné připomínky a věnovaný čas při zpracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a blízkým za jejich podporu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně:

Podpis:

OBSAH

ÚVOD	10
1 PROCES STÁRNUTÍ KŮŽE	11
1.1 EXTRINSICKÉ STÁRNUTÍ.....	11
1.1.1 Expozice UV záření	11
1.1.2 Vliv kouření v procesu stárnutí	12
1.2 INTRINSICKÉ STÁRNUTÍ.....	13
1.2.1 Zkracování telomer	13
1.2.2 Hormonální status kůže.....	15
2 CHARAKTERISTIKA STÁRNOUCÍ KŮŽE	16
2.1 ZMĚNY V EPIDERMIS.....	17
2.2 ZMĚNY V DERMIS	18
2.2.1 Kolagen	18
2.2.2 Elastin.....	19
2.2.3 Glykosaminoglykany.....	21
2.3 ZMĚNY V HYPODERMIS.....	22
2.4 VZNIK A KLASIFIKACE VRÁSEK.....	22
3 CHARAKTERISTIKA BOTULOTOXINU	24
3.1 STRUKTURA.....	24
3.2 HISTORICKÝ PŘEHLED	25
3.3 MECHANISMUS ÚČINKU.....	26
3.3.1 Průběh nervosvalového přenosu.....	27
3.3.2 Blokace nervosvalového přenosu botulotoxinem	28
4 VYUŽITÍ BOTULOTOXINU	31
4.1 PREPARÁTY BOTULOTOXINU	32
4.1.1 Ředění a skladování	33
4.2 INDIKACE.....	34
4.2.1 Glabélní oblast	37
4.2.2 Frontální oblast.....	37
4.2.3 Periorbitální oblast	38
4.2.4 Oblast kořene nosu	39
4.2.5 Spodní oblast obličeje	40
4.3 KONTRAINDIKACE	40
4.4 KOMPLIKACE.....	41
4.5 ŘEŠENÉ OTÁZKY SOUVISEJÍCÍ S POUŽITÍM BOTULOTOXINU	43
ZÁVĚR	45
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53

SEZNAM OBRÁZKŮ	55
SEZNAM TABULEK.....	56
SEZNAM PŘÍLOH.....	57

ÚVOD

Trendem moderní doby je bezpochyby snaha udržet si co nejdéle mladiství vzhled. Ten se však vytrácí s přibývajícím věkem z důvodu přirozeného stárnutí organismu. Působením negativních vlivů okolního prostředí je navíc celý proces podporován a urychlován. Známky stárnutí jsou nejdříve a nejvíce patrné na kůži. Probíhá zde celá řada změn, které významně ovlivňují její vzhled, a to především tvorbou vrásek. Z estetického hlediska jsou vrásky velkým problémem. Významná pozornost je proto soustředěna na vývoj metod, které zajistí jejich eliminaci.

V současné době existuje široká škála možných ošetření a záleží pouze na pacientovi, který typ si zvolí. Chirurgické zákroky jsou preferovány v případech, kdy je pacientem vyžadováno dosažení trvalého efektu. Stále více jsou však využívány šetrnější metody, ke kterým se řadí i aplikace botulotoxinu. Objasnění mechanismu účinku tohoto velmi toxického jedu přispělo jak k léčbě nejrůznějších onemocnění, tak i k zmiňované korekci vrásek.

Každá aplikace botulotoxinu by měla být předem pečlivě zvážena. Zárok by pak měl být proveden pouze lékařem, který je zároveň odborníkem v dané problematice. Před ošetřením je také klient velmi důkladně obeznámen s metodou i možnými komplikacemi. Pro dosažení požadujícího efektu je důležitá spolupráce lékaře s pacientem, ke kterému je vždy přistupováno individuálně.

Jelikož se využití botulotoxinu v estetické dermatologii těší stále větší oblibě a zájem o toto ošetření stále stoupá, je práce věnována právě této problematice.

1 PROCES STÁRNUTÍ KŮŽE

Stárnutí je definováno jako postupné zhoršení fyziologických funkcí v organismu, které vede až k smrti [1]. Jedná se o nezastavitelný stále běžící proces vyskytující se ve všech orgánech lidského těla, avšak nejvíce patrný je právě na kůži [2]. Stárnutí kůže lze definovat jako evoluční děj, jehož výsledkem jsou morfologické a funkční změny probíhající synchronně v epidermis, dermis a hypodermis [3]. Obecně můžeme říci, že primární stárnutí kůže je ovlivňováno dvěma faktory, vnitřními a vnějšími. V praxi se ujal dělení procesu stárnutí právě podle zmíněných vlivů, jedná se tedy o intrinsické (vnitřní, chronologické) stárnutí a extrinsické (vnější) stárnutí [4]. O jednotlivých typech stárnutí je pojednáno dále v textu.

1.1 Extrinsické stárnutí

Extrinsické stárnutí vyvolávají faktory, pocházející z okolního prostředí. Vystavení těmto faktorům do jisté míry závisí na dobrovolnosti, z čehož vyplývá, že mohou být jeho negativní účinky ovlivněny každým jedincem individuálně. Jedná se o nadměrnou konzumaci alkoholu, kouření, špatnou výživu či chronickou expozici UV záření [5]. Ve většině případů jsou projevy tohoto vnějšího stárnutí omezeny na lokality, kde dochází k celoživotní kumulaci UV záření. Jedná se o obličej, hrudník a ruce [4]. K nejvíce diskutovaným faktorům extrinsického stárnutí v současné době patří vliv UV záření a vliv kouření na lidský organismus.

1.1.1 Expozice UV záření

UV záření je jednou ze složek spektra slunečního záření dopadající na zemský povrch o vlnové délce pod 400 nm a je považováno za nejvýznamnější etiologický faktor stárnutí kůže. Uvádí se, že až 80 % stárnoucích změn na kůži obličeje je vyvoláno právě expozicí UV záření [6]. Pro tento proces se ujal označení photoaging [4]. Biologické účinky jsou založeny na absorpci světla chromatofory a následné přeměny energie v chemické reakce. Účinky UV záření na kůži závisí na vlnových délkách. Záření kratší vlnové délky, UVB záření, ovlivňuje epidermis, dochází zde k poškození DNA tvorbou fotokarcinogenních pyrimidinových dimerů. Záření o delší vlnové délce, UVA záření, je absorbováno chromatofory jako je kyselina urokanová, melanin či prekurzory riboflavinu. Tyto složky jsou

schopny vlivem UV záření generovat reaktivní formy kyslíku (ROS- reactive oxygen species), které poškozují DNA bílkovin i lipidů [7]. Více o této problematice v kapitole 1.1.2.

Expozice UV záření na kůži vyvolává změny v pigmentaci, zánět, potlačení imunitní odpovědi či poškození pojivové tkáně. Při dlouhodobém vystavení pak dochází k chronickým poškozením. Kumulace tohoto záření vede k narušení stavby kůže vyvolávající předčasné stárnutí. Velké riziko a hrozbu však představuje navození rakovinového bujení. V kůži vystavené nadměrným dávkám UV záření se změny projevují jak v epidermis, tak v dermis. V epidermis je narušena keratinizace a v dermis, kde je také negativní působení nejvíce patrné, zasahuje převážně elastická vlákna. Dochází ke zvýšení fragmentace a k degradaci kolagenu. Co se týče elastických vláken, ty reagují na expozici UV záření tzv. hyperplazií (sluneční elastóza) a ztrátou integrity, což vede ke snížení pružnosti kůže a následné tvorbě vrásek [4]. Kromě toho UV záření podněcuje rychlejší tempo zkracování telomer, tvorbu enzymu kolagenázy a aktivaci cytokinů. Cytokiny jsou buňky, které mohou zahájit aktivaci jiných buněk imunitního systému (T – lymfocytů, B – lymfocytů), přičemž samy zapříčiňují vlivem UV záření vznik kožního zánětu [8], [2].

1.1.2 Vliv kouření v procesu stárnutí

Urychlujícím faktorem stárnutí patřící mezi vnější vlivy je i expozice tabákového kouře z cigaret. Přesný mechanismus působení není dostatečně objasněn, ale předpokládá se, že látky obsažené v tabákovém kouři ovlivňují převážně elastická vlákna [4]. Kromě toho mohou látky obsažené v tabákovém kouři k procesu stárnutí přispívat i nepřímou cestou díky jejich přítomnosti v krevním řečišti. Příkladem je například nikotin, jedna ze složek tabáku, která vyvolává zvýšenou sekreci vazopresinu do krve, čímž dochází k častějším vazokonstrikcím, které zhoršují výživu kůže [9]. Kouřením ubývá také množství hygroskopických látek v epidermis, které dodávají keratinovým proteinům vyšší elasticitu, zadržují vodu a zároveň chrání před jejím odpařením [10].

Jak bylo řečeno již dříve, kouření a UV záření podporuje vznik reaktivních forem kyslíku (ROS). Volnými radikály se vědci zabývali již v roce 1950 a již tehdy vznikla teorie, že mohou být dalšími činiteli podporující proces stárnutí. Termínem „volný radikál“ se z chemického hlediska rozumí jakákoli molekula, atom, nebo ion, který má ve své valenční sféře nepárový elektron. Ve snaze doplnit si elektronový pár a docílit tak stabilní konfigurace, získávají elektrony od jiných molekul, čímž vytvářejí další a další volné radikály

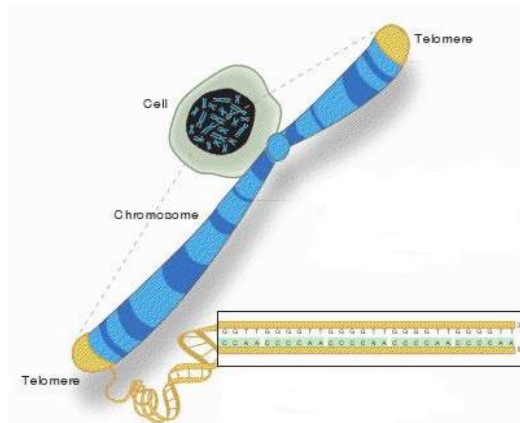
a poškozují tak buněčné struktury. Tento děj má tedy sklon pokračovat formou řetězové reakce. Volné radikály vznikají v organismu při řadě procesů, mimo jiné i při buněčném metabolismu [11]. V lidském těle plní volné radikály řadu důležitých fyziologických funkcí, mezi které patří například signalizace nebo ničení fagocytujících mikroorganismů. Na druhou stranu přítomnost volných radikálů v organismu je také příčinou četných poškození [11], [12]. Lidský organismus je vybaven tzv. antioxidační ochranou, jež zmírňuje dopady volných radikálů [11]. Stárnutím organismu je však obrana proti oxidačnímu poškození a obnova tělesných biomolekul omezena. Je porušena rovnováha mezi produkty radikálové reakce a tzv. antioxidanty, což způsobuje celou řadu problémů [12]. Větší koncentrace ROS negativně působí na lipidy a lipoproteiny v buněčných membránách, sacharidy, bílkoviny včetně enzymů a také na nukleové kyseliny. Existuje zde reálné nebezpečí vzniku mutací a kancerogeneze [11], [12]. Vlivem UV záření je iniciován například vznik destruktivních enzymů, jedná se např. o proteolytické enzymy matrixmetaloproteinázy (MMP), které degradují bílkoviny. Například enzym kolagenáza (MMP-1) degraduje kolagen, čímž také přispívá ke stárnutí kůže [2], [8]. Volné radikály a jejich metabolity, které jsou obsaženy v tabákovém kouři, mají negativní vliv např. na produkci metaloproteinů [9].

1.2 Intrinsické stárnutí

Intrinsické stárnutí se vyskytuje ve všech strukturách lidského organismu na stejné úrovni a nemůžeme jej ovlivnit. Závisí na genetické predispozici, vlivu metabolických onemocnění a hormonálním statutu [3], [13]. Intrinsické stárnutí kůže je pomalý proces, který způsobuje změny ve struktuře tkání [4]. V případě kůže jsou tyto změny diskutovány v následující kapitole. V této části pojednám o základních příčinách intrinsického stárnutí, a to o postupném zkracování telomer při dělení buněk a vlivu hormonálního statutu kůže.

1.2.1 Zkracování telomer

Telomery jsou specializované struktury nacházející se na konci eukaryotních chromozomů. [14]. Struktura chromosomu je uvedena na obrázku 1. Samotné telomery se skládají z úseků hexanukleotidových sekvencí, které ve spojení se specifickými proteiny chrání před degradací chromozomů. Zajišťují tak integritu chromozomu a správný přenos genetické informace [15].



Obr. 1. Struktura chromosomu [16].

Telomery tak buňce napomáhají v prodloužení její životnosti. Délka telomer je dána věkem, částečně dědičností i okolním prostředím [5], [14]. S přibývajícím věkem se délka telomer zkracuje, což je způsobeno opakovaným dělením buněk. S každým dalším dělením tak dojde i k dalšímu zkrácení telomer. Jejich délka pak může být považována za jakési měřítko vnitřního stárnutí organismu [5]. Bylo zjištěno, že zkracování telomer v somatických buňkách dosahuje tzv. „Hayflickova“ limitu, tedy maximálního počtu dělení. V okamžiku dosažení tohoto limitu ustnou buňky v inaktivním stavu (M1 – *mortality stage 1*). V této fázi dochází k absenci proliferace, přičemž jsou buňky dlouhodobě životaschopné. Zastaví se buněčný cyklus, a to v G1 fázi, ve které probíhá růst buňky intenzivní tvorbou nových organel, až do původní velikosti buňky mateřské. Pomocí inaktivace tumorsupresorových proteinů se mohou některé buňky dále dělit, přičemž dochází k dalšímu zkracování telomer, dokud nedosáhnou druhé proliferací zábrany neboli M2 fáze (*mortality stage 2*). Buňky v této fázi mají telomery zkrácené na kritickou délku, nastává destabilizace chromosomů vedoucí k apoptóze (naprogramovaná buněčná smrt) [14]. Proces zkracování telomer však není ve všech buňkách nevratný. V některých buňkách existuje enzym telomeráza, ribonukleoprotein, který dokáže přidávat telomerické sekvence k chromosomu, čímž jej prodlužuje a zároveň stabilizuje [14], [17]. Telomeráza je aktivní především během těhotenství. Diferenciací kmenových buněk činnost enzymu klesá. Zůstává jen málo aktivní v buňkách trvale regeneračních tkání, jako například krvetvorné soustavy, nebo v keratinocytech nacházejících se v epidermis. V diferenciováných somatických buňkách je aktivita telomerázy velmi nízká nebo nulová. Zvýšená aktivita tohoto enzymu však byla prokázána téměř u všech nádorových buněk. [14], [15].

Za poznatek o ochraně chromozomů prostřednictvím telomer a enzymu telomerázy byla v roce 2009 udělena Nobelova cena za fyziologii a lékařství vědcům E. H. Blackburnové, C. W. Greiderovi a J. W. Szostakovi [16].

V současné době je telomerám věnována velká pozornost, jelikož hrají důležitou úlohu v buněčném stárnutí [18].

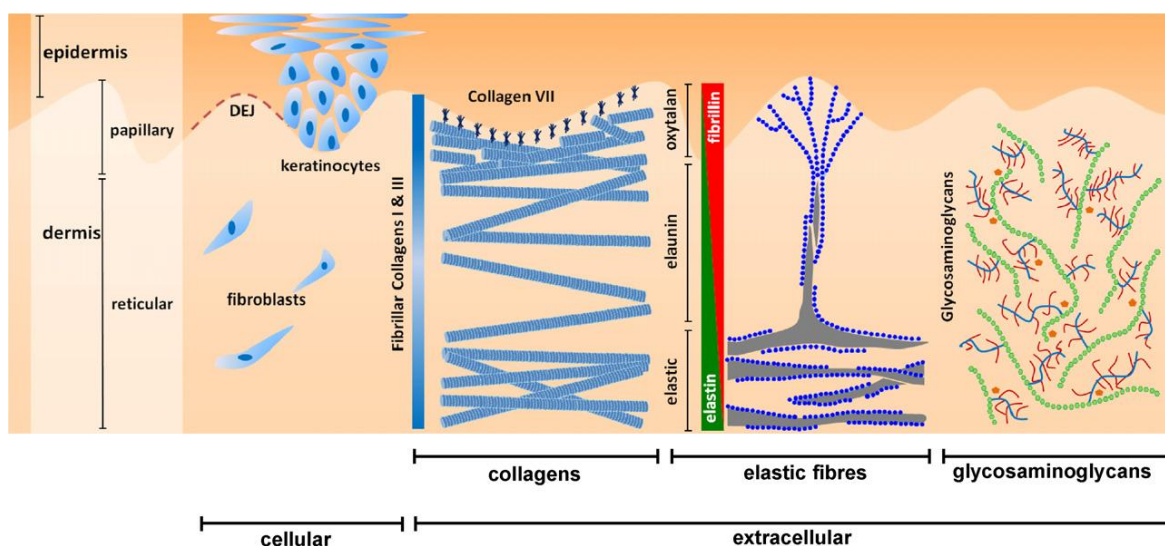
1.2.2 Hormonální status kůže

V intrinsickém stárnutí hraje významnou roli také hormonální stav. Především se jedná o nedostatek sexagenů (estrogeny, androgeny), který vede ke vzniku vrásek, atrofíím, suchosti a bledosti kůže. Dále způsobuje atonii a sníženou elasticitu kůže se sníženou rezistencí k traumatům. Nedostatek sexagenů vyvolává snížení epidermální obnovy, redukci množství a fragmentaci kolagenních i elastických vláken a negativně se projevuje i na produkci glykosaminoglykanů, zejména kyseliny hyaluronové. Přestože vliv těchto hormonů na kůži ještě není dokonale objasněn, při indikaci hormonální substituce, zvláště u žen po menopauze, byl prokazatelně snížen výskyt vrásek a zlepšen celkový stav kůže [10].

V kůži dochází k mnoha důležitým změnám, které následně ovlivňují její vlastnosti, funkci a tím její celkový vzhled. Následující kapitola je proto věnována právě této problematice.

2 CHARAKTERISTIKA STÁRNOUCÍ KŮŽE

Kůže je označována za jeden z nejdůležitějších orgánů lidského těla, pokrývá celý povrch těla, čímž chrání organismus před vlivy okolního prostředí. Kromě ochranné funkce zde probíhá látková výměna, melanogeneze, syntéza vitamínu D i enzymů. Kůže také pomocí kožních cév a potních žláz zajišťuje termoregulaci lidského těla. Kůže je skladebně i vývoje složitý orgán skládající se sestupně z: epidermis, dermis a hypodermis [19]. Kožní funkce jsou zprostředkovány především strukturou epidermální a dermální vrstvy. Epidermis svým složením tvoří bariéru, která zamezuje ztrátě vody či vstupu patogenních organismů. V dermis dochází k syntéze základních složek extracelulární matrix prostřednictvím kožních fibroblastů. Mezi hlavní složky dermis patří kolagen, elastin a glykosaminoglykany, které společně tvoří strukturu a zajišťují funkci dermis. Tyto dvě vrstvy, epidermis a dermis, jsou spojeny kompozičně složitě zvlněnou dermoepidermální jankcí (DEJ). Jedná se o spojení, ve kterém jsou bazální epidermální keratinocyty upevněny pomocí kolagenu IV typu na bazální membráně hemidesmosomu, přičemž dermis je zakotvena kolagenovými vlákny VII typu a fibrilinem (miofibrilární svazky) [20]. Pro lepší představivost jsou na obrázku 2 zobrazeny buněčné i extracelulární složky pleti dle Naylora. Nejhlubší vrstvou kůže je hypodermis, která plní izolační funkci a je také zásobárnou energie [19].



Obr. 2. Buněčné a extracelulární složky mladé pleti [20].

Proces stárnutí je spojen s fenotypovými změnami v kožních buňkách, které se navenek projevují tvorbou vrásek a ztrátou pružnosti tkání. Nejvíce jsou ovlivňovány proteiny dermální extracelulární matrix, u kterých vlivem stárnutí dochází ke změnám ve struktuře i kompozici [20]. Nyní konkrétněji ke změnám v jednotlivých částech kůže.

2.1 Změny v epidermis

Struktura epidermis lidské kůže je charakterizována jako vícevrstevný zrohovatělý plochý epitel. Epidermis je možno rozdělit také do několika vrstev, vzestupně se jedná o *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum* a na povrchu pak *stratum corneum*. Trvale mitoticky aktivní vrstva bazálních buněk produkuje dceřiné buňky, keratinocyty, které podléhají epidermální diferenciaci, což trvá asi 28 - 30 dní a nazývá se keratinizace. Tímto procesem se keratinocyty dostávají přes jednotlivé vrstvy až na povrch pokožky, přičemž se oplošťují a degenerují. Zároveň se v buňkách zvyšuje obsah bílkoviny, keratinu. Zcela oploštěné buňky, korneocyty, na povrchu kůže umírají a podléhají deskvamaci. Zrohovatělá vrstva na povrchu kůže, tvořená keratinem zajišťuje ochrannou bariéru. Kromě keratinu se v epidermis nachází melanocyty, Langerhansovy buňky, které jsou součástí imunitního systému a dále Merkelovy buňky, které zde slouží jako mechanoreceptory [2], [21].

Stárnutím dochází ke zkrácení života epidermálních keratinocytů, a tím ke snížení epidermální obnovy až o 50 % [3]. Tato změna se projevuje matným a drsným vzhledem kůže a také pomalejším hojení ran [6]. Snižuje se syntéza Langerhansových buněk, čímž se kvalitativně snižují imunitní reakce organismu. Dochází také ke snižování počtu enzymaticky aktivních melanocytů o 30–50 % [3]. S klesajícím počtem těchto buněk se mění i rozmístění melanocytů. Jejich nerovnoměrností vznikají barevné změny na pokožce [8].

Proces stárnutí ovlivňuje i dermoepidermální junkci (DEJ), hranici mezi epidermis a dermis, která je silná 0,5 – 1,0 μm [1], [21]. Tato dermoepidermální hranice se s věkem a působením vnějších vlivů vyhlazuje. Tento jev je pozorován ve větší míře u kůže vystavené slunečnímu záření [21]. Následkem je zvýšená náchylnost k tvorbě puchýřů, snížená metabolická aktivita i soudržnost kůže [3], [10].

2.2 Změny v dermis

Střední část kůže, označována i jako škára, spojuje epidermis s hypodermis. Jedná se o pevnou a pružnou vazivovou vrstvu kůže, silnou asi 3 mm [21]. Na rozdíl od epidermis se zde nachází bohatá síť krevních a lymfatických cév, mazové a potní žlázy, vlasové folikuly a mnoho nervových zakončení, receptory tlaku, dotyku, chladu i tepla [1], [21]. Dermis je rozdělena na papilární (svrchnější) část a základní retikulární (spodnější) část. Papilární částí je dermis spojena s epidermis. Skládá se z volných pojivových tkání, které tvoří vazby s bazální membránou epidermis [4]. V retikulární části se kromě fibroblastů, odpovědných za syntézu hlavních komponent extracelulární matrix, nachází také makrofágy a mastocyty [1]. Jak bylo zmíněno výše, hlavními složkami dermis jsou kolagen, elastin a glykosaminoglykany, o kterých bude více pojednáno dále v textu.

Změny, ke kterým během stárnutí dochází, jsou nejvíce patrné právě v dermis [8]. Tloušťka dermis se časem zmenšuje přibližně o 20 %, snižuje se počet fibroblastů, mastocytů i počet krevních kapilár [6]. Po poškození fibroblastů, ke kterému dochází díky procesu stárnutí nebo stresem, mají tyto buňky jedinečnou regenerační schopnost, stávají se z nich tzv. myofibroblasty, čímž aktivně přispívají k obnově kůže [22]. Stárnutím je však snížen jejich replikační potenciál [1].

2.2.1 Kolagen

Kolagen je řazen mezi extracelulární, vláknité proteiny a díky své velmi unikátní struktuře, která je charakteristická vysokým stupněm vnitřní organizace molekul, zajišťuje tkáním správnou funkci, zejména mechanickou pevnost. Kromě toho, že je hlavní složkou extracelulární matrix, zaujímá také zásadní postavení při formování kožního skeletu [22]. Kolagen zaujímá 25 – 30 % z obsahu všech bílkovin v těle. Je nejdůležitější organickou složkou v kůži, kostech, chrupkách, šlachách a vazivu. Nachází se také jako součást cévních stěn, bazálních membrán a rohovek [23]. Rozlišujeme několik typů kolagenu, které se od sebe liší svou strukturou i složením aminokyselin [21]. V kůži se vyskytuje zejména kolagen typu I, který zahrnuje asi 80 % kožního kolagenu. Dále se v kůži nachází přibližně 15 % kolagenu typu III, v menší míře i kolagen typu IV a VII, jenž se podílejí především na dermoepidermálním spojení [6]. Kolagen se vyznačuje vysokým obsahem prolinu, který představuje zhruba jednu třetinu z aminokyselin, ze kterých je tento protein tvořen. Je charakteristický svou trojřetězcovou strukturou, vznikající z prokolagenu. Tři kolagenové polypep-

tidové makromolekuly, nazývané α -řetězce se společně stáčejí do pravidelné pravotočivé superšroubovice [23]. Prostorové uspořádání kolagenového vlákna je závislé také na přítomnosti podpůrných makromolekul známých jako proteoglykany a glykosaminoglykany (viz kapitola 2.2.3). Během procesu stárnutí je snížena syntéza kolagenu, který je postupně nahrazován slabšími glykosaminoglykany. Mění se také poměr mezi kolagenem typu I a III, je také pozorován úbytek kolagenu typu IV a VII [5]. Současně klesá pevnost v tahu i mechanická odolnost kolagenních struktur [10], [8]. Stárnutí organismu nevede pouze k úbytku kolagenních vláken, dochází také k jejich, degradaci, fragmentaci a dezorganizaci síťového uspořádání. Degradace kolagenových vláken je nejčastěji způsobena činností proteolytických enzymů, matrixmetaloproteináz, které jsou aktivovány působením UV záření [5].

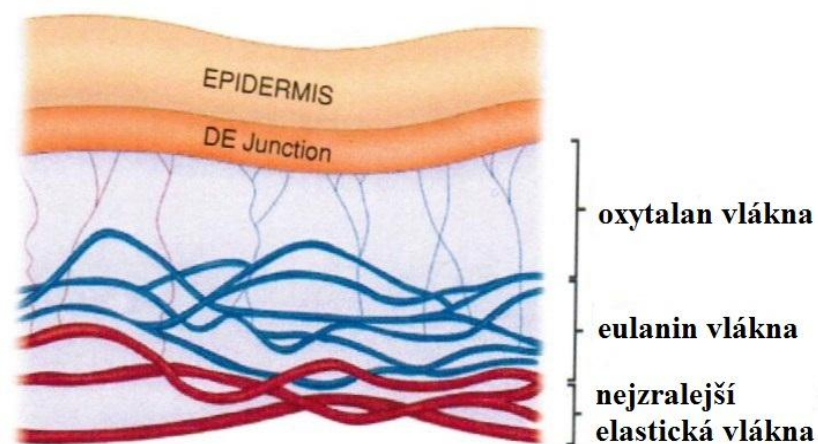
Dalším vysvětlením kolagenové degradace je glykace proteinů [24], tedy i kolagenu. Glykací se rozumí neenzymatická, řetězová radikálová reakce, známá také pod označením Maillardova. Jedná se o reakci mezi redukujícím cukrem a aminokyselinou, stavební složkou proteinu. Touto reakcí dochází ke vzniku nestabilní Schiffovy báze, která podléhá přeusmyku, vedoucí ke vzniku více stabilního Amadoriho produktu. V dalším kroku jsou tyto produkty buď nevratně oxidovány, nebo rozkládány na původní amin a deoxyglukosany. V poslední fázi reakce dochází ke vzniku tzv. koncových produktů glykace (AGEs), které jsou termodynamicky stabilní, čímž Maillardovu reakci terminují. Mezi tyto konečné produkty glykace patří např. pyrralin nebo pentosidin [25]. Zvýšená koncentrace AGEs, konkrétně pentosidinu byla zaznamenána u starších a diabetických pacientů, přičemž s přibývajícím věkem má obsah AGEs stoupající tendenci [26]. Je však prokázáno, že už nízká koncentrace těchto produktů způsobuje fyzikální změny kolagenů [25]. Navíc bylo zjištěno, že kumulace AGEs ovlivňuje přesnou agregaci monomerů do kolagenních vláken, které se navíc stávají křehčí a tužší. Kromě kolagenu ovlivňuje také extracelulární matrix a matrice buněčných interakcí [26].

V důsledku těchto změn dochází ke vzniku vrásek [6], a proto se kolagen dostal do popředí zájmu anti-aging výzkumů [24].

2.2.2 Elastin

Elastin je extracelulární, vláknitá bílkovina vyskytující se v pojivových tkáních, šlachách a stěnách cév [21], [27]. Elastická vlákna představují jednu ze základních součástí extracelulárního matrix [2]. Zaujímají 2 % – 4 % z objemu dermis a zajišťují vysokou pružnost

kůže [24]. Elastin tvoří pružné síťovité útvary, které jsou schopny prodlužovat několikanásobně svou délku a zase se zpět vracet do původního stavu [27]. Zralý elastin je extrémně stabilní a jeho životnost se odhaduje přibližně na 70 let [4]. Elastin vzniká z prekursoru tropoelastinu, který je tvořen jedním polypeptidovým řetězcem, který obsahuje střídavě hydrofilní a hydrofobní části [2], [27]. Hydrofobní oblasti, bohaté na aminokyseliny prolin, valin, glycin jsou zodpovědné za pružnost elastických vláken. Hydrofilní oblasti, bohaté na alanin a lysin se uplatňují v procesu zesítnění. Proces zesítnění elastinu je nezbytný pro správnou funkci a stabilitu tohoto proteinu [2]. Na vzniku zralého elastinu se podílí i v dermis přítomné mikrofibrily, které slouží jako tzv. „lešení“ a napomáhají tak správnému ukládání elastinu. Mikrofibrily jsou tvořeny převážně glykoproteiny, zejména fibrilinem. Vlákná elastinu, jsou tedy složena z molekul tohoto proteinu, a mikrofibril, obklopujících elastinové molekuly. V dermis jsou tyto vlákna přítomny v různém stádiu zralosti. Nejméně zralá vlákna se nazývají oxytalan. Jedná se o jemná vlákna uložená ve vrchní vrstvě dermis, která jsou orientována kolmo k epidermis. Eulanin jsou zralejší, silnější vlákna orientována horizontálně v hlubší vrstvě dermis [2], [24]. Nejzralejší vlákna nejsou pojmenovaná a nacházejí se nejhluběji v dermis [2]. Zmiňovaná vlákna lze vidět na obrázku 3.



Obr. 3: Elastická vlákna uložená v kůži dle stupně
zralosti [2]

Jak kůže stárne, dochází také ke změnám tohoto proteinu. V kůži vystavené vlivům UV záření dochází k hromadění elastinových molekul, což v místě expozice vyvolá zahušťování a stáčení elastických vláken ve vrchní vrstvě dermis těsně pod dermoepidermální hranicí. Chronickým působením UV záření může k těmto změnám docházet i v hlubší vrstvě dermis [2]. Nahromaděný elastin je však částečně znehodnocený a roztržštěný. Dále bylo zjištěno, že elastin starých lidí obsahuje velké množství polárních aminokyselin a malé množství cukrů a lipidů [5], [22]. I při absenci slunečního záření dochází k poškození elastinu [2]. S přibývajícím věkem je degradace elastinu pomalejší než syntéza, a proto dochází k nahromadění poškozených elastinových vláken [24]. Postupně se také ztrácí síť oxytalanových vláken. Tento jev je úzce spojen se ztrátou elasticity kůže. Bylo prokázáno, že roli v degradaci elastinu mají proteolytické enzymy, matrixmetaloproteinázy, konkrétně MMP-2 [5]. K degradaci elastinu přispívá i glykace proteinů, která je zmíněna v předcházející kapitole [26].

2.2.3 Glykosaminoglykany

Glykosaminoglykany (GAG) se spolu s kolagenem a elastinem podílí na vnějším vzhledu pokožky. GAG jsou schopny vázat velké množství vody, mnohdy až 1000 krát větší než je jejich původní objem. GAG jsou polysacharidové řetězce, tvořeny opakujícími se disacharidovými jednotkami [5]. Vazbou na bílkovinu vznikají proteoglykany. Do skupiny glykosaminoglykanů, které se v kůži vyskytují nejvíce, patří zejména kyselina hyaluronová, která má zásadní význam v hydrataci kůže. Patří zde také dermatan sulfát a chondroitin sulfát [24]. Díky těmto sloučeninám je pleť měkká a hydratovaná. Pomáhají i při udržování správné bilance soli a vody v kůži [5]. GAG jsou schopny navázáním vody vytvořit gely, ve kterém se vyskytují ve vodě rozpustné molekuly, jako hormony, peptidy či ionty. I když se také podílejí na struktuře kůže, nedosahuje vytvořený skelet takových kvalit jako v případě kolagenu. Během stárnutí však dochází ke snížení obsahu kolagenu a tak je jeho deficit nahrazen slabšími GAG. Touto výměnou se kůže stává méně pružná a tenčí. Časem má gel tvořený GAG díky jeho slabé struktuře tendenci se prohýbat [22]. S přibývajícím věkem však klesá i obsah glykosaminoglykanů v kůži. K největším změnám dochází v případě kyseliny hyaluronové, která je velmi důležitou součástí dermis. V mladé pleti se nachází na okrajích kolagenových a elastinových vláknecích a na jejich rozhraní. Ve stárnoucí kůži tato spojení mizí [2].

2.3 Změny v hypodermis

Hypodermis (podkoží) je nejspodnější vrstva kůže tvořena řídkou vazivovou tkání a tukovými buňkami. Přítomnost tukových buněk zabezpečuje ochranu ostatních tkání před chladem a tvoří zároveň zásobárnu energie. Jsou zde uloženy receptory tlaku a tahu [21]. V hypodermis degenerují tukové vakuoly a cévní struktury a ve vazivových přepážkách se ukládají produkty metabolismu. Ztráta podkožního tuku se také podílí na vzniku vrásek. V některých oblastech dochází k jeho ztrátě, naopak v jiných zase k jeho hromadění [10], [28]

2.4 Vznik a klasifikace vrásek

Důsledkem všech výše uvedených změn v epidermis, dermis i hypodermis vznikají vrásky, které se staly také symbolem procesu stárnutí kůže. Během tohoto děje dochází ke snížení svalové hmoty, tloušťky kůže, kolagenních a elastických vláken a k jejich degradaci. Zároveň dochází k nedostatečné hydrataci kůže. Všechny tyto probíhající změny vedou ke ztrátě mechanické odolnosti a elasticity kůže [29].

Ke vzniku jemných vrásek dochází po dosažení věku 30 let a vrcholu dosahují ve věku 40 let. Prosazují se přitom jak vnitřní tak vnější faktory. Jen pro připomenutí mezi vnitřní faktory patří např. změny v endokrinním i nervovém systému nebo dědičnost. Mezi vnější faktory náleží např. expozice UV záření [29]. V současné době jsou vrásky jedním z nejčastějších problémů, se kterými přicházejí klienti do ordinací specialistů v estetické dermatologii. Moderní doba si jednoduše žádá mladistvý vzhled. Nejvyšší výskyt vrásek je na místech vystavených vlivům vnějšího prostředí. Jedná se o tyto lokality: obličej, krk, dekolt a hřbety rukou. Definice vrásek není přesně vymezena. Dalo by se říci, že se jedná o různě hluboké linie, které narušují kontinuitu hladkého vzhledu kůže [28].

Vrásky mohou být dle Kykalové [28] rozděleny dle vzniku na dynamické (mimické), statické, habituální, ztrátové a dále kombinované dle hloubky.

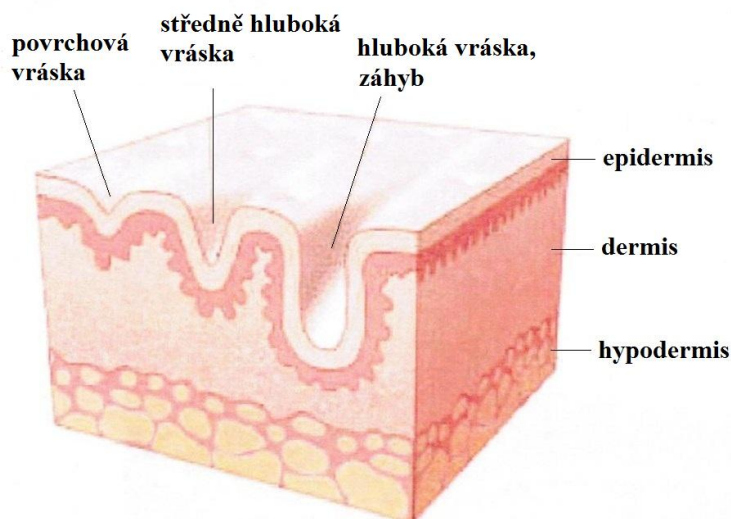
Dynamické (mimické) vrásky – vznikají pohybem mimických svalů za současného tahu kůže. Nejčastěji se tyto vrásky vyskytují na čele, mezi obočím, v okolí očníce a na kořeni nosu. Mohou se vyskytovat ve dvou stupních. V prvním stupni jsou patrné pouze při pohybu svalů. V druhém stupni zůstávají viditelné i bez pohybu svalů [10], [28].

Statické vrásky – vznikají přirozeně v důsledku intrinsického stárnutí kůže. Hlavní je ztráta hydratace a elasticity kůže [10], [28].

Habituální vrásky – vznikají působením vnějších vlivů, především UV záření, kouření nebo působením opakovaného tlaku (spánek v jedné poloze) [10], [28].

Ztrátové vrásky – k jejich vzniku dochází při ztrátě tukové tkáně [28].

Dle hloubky se vrásky mohou dále dělit na povrchové, středně hluboké, hluboké a hluboké přechody (záhyby) [28]. Jednotlivé typy jsou uvedeny na obrázku 4.



Obr. 4. Vráska – řez kůží [28].

Pochopení procesu stárnutí kůže, jakožto příčiny vzniku vrásek a znalost základního rozdělení vrásek slouží pro jejich klasifikaci a zvolení vhodné metody ošetření. Existuje řada metod korekce vrásek. Od aplikace různorodé pleťové kosmetiky, přes metody korektivní a estetické dermatologie, po metody plastické a estetické chirurgie. Metody korektivní a estetické dermatologie nabízejí v současné době širokou škálu ošetření, jejichž výsledky jsou téměř ihned viditelné a nejsou tolik náročné jako metody estetické a plastické chirurgie. Mezi nejznámější patří například aplikace botulotoxinu, chemický peeling, laserový výbrus, aplikace injekčních výplní apod. [28]. Vzhledem k rozsáhlé problematice jednotlivých metod a omezenému rozsahu práce bude v další kapitole pojednáno pouze o korekci vrásek metodou aplikace botulotoxinu.

3 CHARAKTERISTIKA BOTULOTOXINU

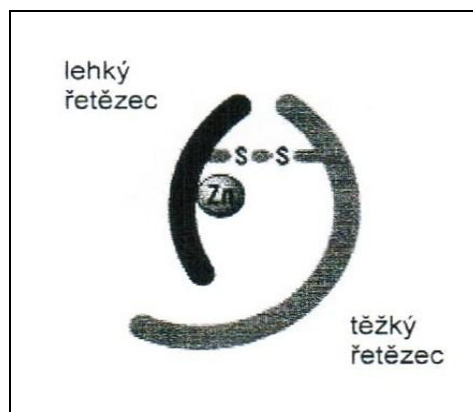
Botulotoxin patří do skupiny exotoxinů. Je produkován bakterií *Clostridium botulinum*. Jedná se o grampozitivní sporulující tyčinku, běžně se vyskytující v přírodě a patřící do čeledi Clostridiaceae. Produkce toxinu je však prokázána nejen u této bakterie, ale i u dalších biologicky odlišných klostridií [2].

Botulotoxin způsobuje otravu, známou jako botulismus (z latinského slova botulus = klobása), která je charakterizována postupnou nervosvalovou paralýzou [2]. Z tohoto důvodu je toxin této bakterie řazen mezi neurotoxiny. V současné době je známo na 7 antigeně odlišných typů (sérotypů) botulotoxinu, značených písmeny A – G, které jsou tvořeny různými kmeny této bakterie [30]. Některé literatury uvádí, že kmeny této bakterie produkují 8 typů botulotoxinu, z nichž 7 je schopno navodit nervosvalovou paralýzu [31]. Botulotoxiny jsou vysoce toxickými látkami jak pro člověka tak i zvířata, avšak pro samotné buňky nebezpečí nepředstavují. Jediným cytotoxickým botulotoxinem je sérotyp C [32], který patří spolu se sérotypem D mezi ptačí patogeny [33]. Sérotypy A, B, E, F a G jsou patogenní pro člověka a ostatní savce [32]. U všech sérotypů botulotoxinu je prokázána podobná toxicita a je potvrzen i stejný mechanismus účinku (viz níže) [34]. Doposud je však nejvíce prozkoumán a nejvíce klinicky využíván botulotoxin typu A, který je také nejtoxičtější z uvedených typů [31].

3.1 Struktura

Jednotlivé sérotypy botulotoxinu se od sebe liší svými fyzikálními i klinickými vlastnostmi [31]. Vždy se však jedná o protein s celkovou molekulovou hmotností 140 – 170 kilodaltonů (kDa), přičemž 1 dalton je cca $1,660539 \cdot 10^{-27}$ kg [34]. Skládá ze dvou nestejně velkých řetězců, které se od sebe liší svou molekulovou hmotností. Tzv. těžký řetězec (H-chain) má molekulovou hmotnost 100 000 Da a lehký (L-chain) pouze 50 000 Da [35]. Těžký řetězec bývá někdy označován jako farmakokinetická jednotka, jenž zajišťuje navigaci a dopravu molekuly toxinu. Lehký řetězec je uváděn jako farmakodynamická jednotka, která umožňuje penetraci přes membrány k cílovým strukturám [33]. Oba řetězce jsou syntetizovány samostatně uvnitř buňky a samy o sobě nejsou toxické. Ke vzniku dvouřetězcové molekuly a zároveň její aktivaci dochází během sekrece z buňky působením proteolytických enzymů, které řetězce spojují disulfidickými vazbami [34], [36]. Proteinová molekula je znázorněna

na obrázku 5. Tato vazba je poměrně nestabilní a může být vlivem vysokých teplot nebo vysokého pH narušena [33]. Poškození této vazby toxin inaktivuje [31].



Obr. 5. Molekula botulotoxinu [36]

Na základě porovnání sekvencí aminokyselin byla vytvořena hypotéza prostorového uspořádání molekuly botulotoxinu. Jedná se o tři prostorově oddělené a odlišné části – domény. První, translokační doména umožňuje penetraci toxinu přes buněčnou membránu do cytosolu tím, že deformuje jeho strukturu [35]. Druhá, vazebná doména obsahuje specifické terminální C-řetězce, které zprostředkovávají vazbu toxinu na receptory uložené v buněčné stěně presynaptického vlákna [35], přičemž každý sérotyp má své vlastní specifické receptory [2]. Poslední, katalytická doména nemá zcela jasnou funkci, ale předpokládá se její role v přilnavosti toxinu k buněčné stěně, což vyvolá aktivaci translokační domény [35]. Botulotoxiny se *in vivo* často nachází v komplexu s netoxickými proteiny, jejich přítomností je toxin chráněn před rychlou proteolýzou [34]. Při vstupu botulotoxinu do organismu orální cestou zvyšují netoxické proteiny jeho toxicitu. Při parenterálním způsobu podání obsah proteinu v preparátu zlepšuje stabilitu toxinu, zpomalují jeho difúzi a zvětšují tak terapeutickou kontrolu [37].

3.2 Historický přehled

Klinický obraz otravy u člověka po požití vyuzené, ale nepřevařené klobásy byl popsán již v roce 1817. Pro tuto intoxikaci se ujalo označení botulismus, ze kterého byla následně pojmenována bakterie i toxin, jenž nese za otravu odpovědnost [33]. Bakterie *C. botulinum*

jako původce botulismu byla poprvé získána belgickým profesorem, který se zabýval úmrtím pacientů po požití kontaminované potravy [31], [33]. Izolace čistého botulotoxinu se podařila již v roce 1920, nicméně mechanismus účinku byl popsán až v roce 1945. O první klinické využití botulotoxinu se zasloužil anglický oftalmolog v léčbě strabizmu (šilhavost) [33]. Od roku 1980 se použití této látky významně rozšířilo k léčbě blefarospazmu, hemifaciálnímu spazmu a cervikální dystonii. V roce 1987, byl při léčbě blefarospazmu (křečovitý stah svalového svěrače víček) injekcemi botulotoxinu typu A pozorován u pacientů vedlejší kosmetický efekt [31], [37]. Některým pacientům se výrazně zlepšily dynamické vrásky v periokulární oblasti [31], což vedlo k podrobnějšímu zkoumání kosmetického využití botulotoxinu. V roce 1990 byla zveřejněna první zpráva o využití botulotoxinu typu A pro kosmetické účely [38], přičemž v roce 2002 bylo jeho použití v kosmetické praxi schváleno Správou potravin a léčiv FDA (Food and Drug Administration) pro léčbu glaberrálních vrásek (<http://www.fda.gov>) [39]. V současné době botulotoxin nachází uplatnění v medicíně. Velký přínos znamená pro léčbu celé řady poruch motoriky, v menší míře i hladkého svalstva [40], [37]. Využití botulotoxinu představuje zásadní průlom i v léčbě neurologických onemocnění [34]. V dermatologii je úspěšně používán k dočasnému snížení fokální hyperhidrózy [31] a v posledním desetiletí je jednou z nejpopulárnějších metod boje proti kožním příznakům stárnutí, zejména pak dynamických vrásek obličeje [2]. V současné době je FDA k výše zmíněným účelům schváleno používání botulotoxinu typu A a v léčbě cervikální dystonie také botulotoxinu typu B [2]. V bakalářské práci se dále budu věnovat pouze problematice, týkající se korekce vrásek pomocí botulotoxinu.

3.3 Mechanismus účinku

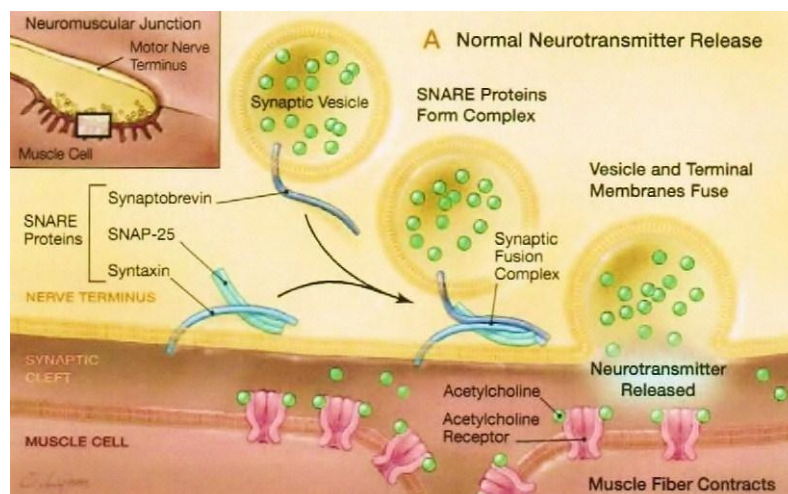
Botulotoxin je využíván pro jeho schopnost způsobovat dočasné ochrnutí hyperaktivních svalů. Parálýza je způsobena inhibicí uvolňování acetylcholinu, neurotransmiteru, který slouží k přenosu vzruchu mezi nervovým zakončením a svalem. Blokadí tohoto přenosu je zabráněno vyvolání svalové kontrakce [33], [41]. Nervosvalová ploténka je přitom modifikovaná synapse. Jedná se o spojení mezi nervovým vláknem (tzv. presynaptickou částí) a svalovou buňkou kosterního svalu (tzv. postsynaptickou částí). Mezi nervovým vláknem a svalovou buňkou se nachází synaptická štěrbin, která je pro přenos vzruchu velmi důležitá [42].

3.3.1 Průběh nervosvalového přenosu

Nervosvalový přenos je za běžných podmínek možné rozdělit na několik fází, a to na syntézu acetylcholinu, jeho uložení, následné uvolnění, degradace a recyklace acetylcholinu [33].

Nejprve dochází k transportu cholinu z extracelulární tekutiny do buněčného cytosolu cholinergních nervových zakončení. Zde enzymatickou reakcí cholinu s acetyl-koenzymem A vzniká acetylcholin, který je dopraven a uložen do synaptických vezikul (transportních váčků) v nervové buňce. Ke svalové kontrakci dochází po splynutí membrány vezikuly s presynaptickou membránou a po uvolnění acetylcholinu. Toho spojení je dosaženo vznikem komplexu mezi specifickými proteiny, které jsou přirozenou součástí obou membrán. Na membráně vezikul se jedná o protein VAMP (vesicle associated membrane protein – dříve označován synaptobrevin) a na presynaptické membráně se nachází dva proteiny, SNAP 25 (synaptosomal associated protein) a syntaxin. Jejich vzájemnou vazbu umožňuje kofaktor NSF (N-ethylmaleimide sensitive fusion protein). Komplex vzniklý spojením všech přítomných proteinů při splynutí obou membrán se nazývá SNARE (termed soluble NSF-attachment protein receptors). Tvorba komplexu je podmíněna drážděním nervového vlákna, během kterého dochází ke zvýšení koncentrace vápenatých iontů v intracelulárním prostoru nervosvalové buňky, což způsobuje inaktivaci synaptoagminu, proteinu, který této vazbě zabraňuje [33], [43], [44].

Splynutím membrány vezikuly s presynaptickou membránou je z vezikuly uvolněn acetylcholin do synaptické štěrby. Následně je vázán na postsynaptické receptory svalových buněk, čímž je spuštěn proces, jehož výsledkem je svalová kontrakce. Acetylcholin je po přenosu impulzu z receptoru uvolňován a vrácen zpět do synaptické štěrby, kde je enzymem acetylcholinesterázou štěpen na cholin a acetát [33], [44]. Cholin tak může být do tohoto cyklu zapojen znovu [33]. Na obrázku 6 je znázorněn nervosvalový přenos.



Obr. 6. Schéma normálně probíhajícího nervosvalového přenosu [44]

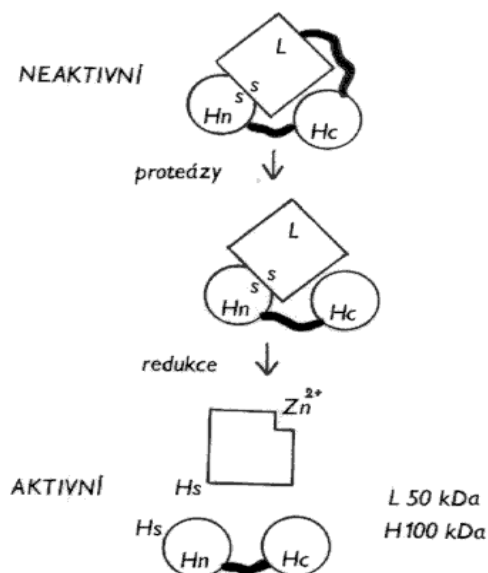
3.3.2 Blokace nervosvalového přenosu botulotoxinem

Samotné působení botulotoxinu na nervosvalové ploténce probíhá ve třech fázích: vazbou na presynaptickou membránu, internalizací – průnikem toxinu přes membránu do cytosolu nervového zakončení a blokadí exocytózy acetylcholinu [33].

V prvním kroku dochází k navázání molekuly botulotoxinu na presynaptickou membránu nervosvalového vlákna prostřednictvím těžkého řetězce. Toxin se vyznačuje vysokou afinitou k neurální tkáni, kterou zapříčiňuje přítomnost určitých typů gangliosidů na této tkáni. Na těžkém řetězci byly pro tyto gangliosidy identifikovány specifické receptory. Struktura receptorů se u jednotlivých sérotypů liší [33].

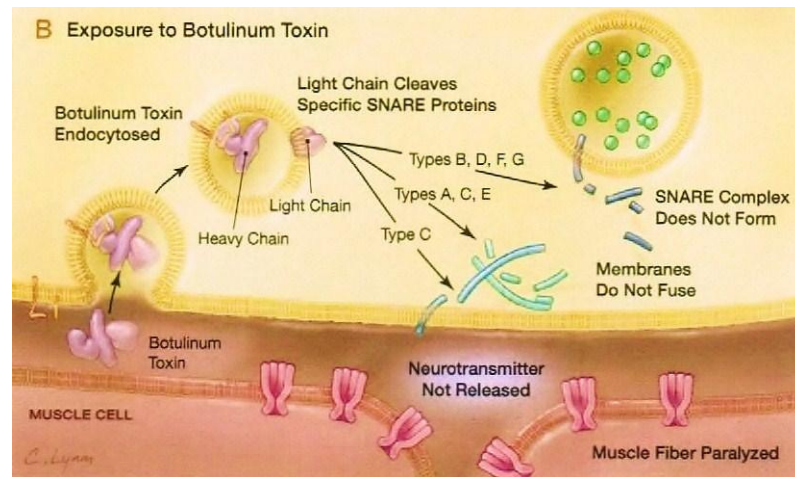
Další fází je internalizace, která nastane po vazbě na presynaptickou membránu. Internalizace znamená proces, kterým se botulotoxin dostává do nitra nervové buňky. Transport je zprostředkován tzv. stimulovanou endocytózou, která je závislá na koncentraci vápenatých iontů a probíhá pouze tehdy, je-li nervové vlákno drážděno. Neurotoxin proniká do cytosolu nervové buňky, je však uložen do endosomů, speciálních vezikulárních útvarů vzniklých endocytózou. Uvnitř endosomů se pak vlivem nízkého pH mění prostorové uspořádání molekuly botulotoxinu. Změnou uspořádání dojde k odhalení aktivních vazebných struktur na lehkém řetězci. Toxin je poté z endosomů uvolněn do cytosolu, kde na něj působí neuronální enzymy tioredoxin-reduktázového systému, které za běžných okolností chrání nervové buňky před atakem volných radikálů. Tyto enzymy redukuji disulfidickou

vazbu mezi oběma řetězci molekuly toxinu, řetězce se oddělí a toxin je aktivován [33], [34], [45]. Na obrázku 7 je uvedena aktivace molekuly toxinu.



Obr. 7. Aktivace molekuly toxinu [45]

Vlastní toxická aktivita je záležitostí pouze samostatného lehkého řetězce, který byl v předcházejícím procesu izolován od těžkého řetězce. Všechny sérotypy botulotoxinu jsou zinek-dependentní proteázy (endopeptidázy), které štěpí části komplexu SNARE. Štěpením některé z částí je znemožněna tvorba komplexu, bez kterého nenastane splynutí vezikuly s presynaptickou membránou. Z vezikuly se tak neuvolní acetylcholin do synaptické štěrbině, dojde k zablokování přenosu vzruchu na nervosvalové ploténce, tudíž nedochází ke svalové kontrakci. Jednotlivé typy botulotoxinu štěpí různé části SNARE. Botulotoxin typu A enzymaticky štěpí vazebný protein SNAP 25. Botulotoxiny typu B, D, F a G štěpí synaptobrevin a botulotoxin typu C jako jediný štěpí dva z vazebných proteinů, a to SNAP 25 a syntaxin [33], [34]. V poslední době bylo zjištěno, že botulotoxin kromě blokady uvolňování acetylcholinu výrazně snižuje i uvolňování jiných neurotransmiterů, noradrenalinu, dopaminu, serotoninu a γ -aminomásékyseľiny [46]. Schéma blokace nervosvalového přenosu je uvedeno na obrázku 8.



Obr. 8. Schéma blokace nervosvalového přenosu po intoxikaci botulotoxinem [44]

Botulinové toxiny se na presynaptické membrány nervových buněk vážou rychle a ireverzibilně. Přilnutí toxinu na presynaptickou membránu nastává zhruba do hodiny. Svalová paralýza pak nastává obvykle po 24 hodinách od podání [31]. Již 48 hodin po aplikaci neurotoxinu tvoří axon opět nové výběžky (klíčky, sprouts), mechanismem zvaným „axonal sprouting“, které různě obrůstají a podrůstají zablokovanou nervosvalovou ploténku a tím vytváří nová spojení se svalem [33], [34]. Kromě axonální regenerace je možným faktorem v obnovení svalové funkce i dočasně zvýšené množství receptorů pro acetylcholin na svalové membráně. Úplné obnovení svalové síly se pak dostaví v závislosti na dávce a typu botulotoxinu po několika týdnech až měsících [31], [33].

4 VYUŽITÍ BOTULOTOXINU

V dermatologické praxi se botulotoxin těší stále větší oblibě. Tento fakt dokazují i údaje, které byly získány mezi lety 2000 až 2008 v USA. Průzkumem bylo zjištěno, že počet jeho aplikací se zvýšil o 573 %. Jedná se tedy o 5 milionů ošetření ročně. Vysvětlením může být skutečnost, že aplikace botulotoxinu je řazena mezi minimálně invazivní zákroky, které jsou v dermatologii uplatňovány nejen ke korekci vrásek, ale i k dočasnému snížení fokální hyperhidrózy. Mnoho pacientů tedy upřednostňuje botulotoxin jako jednu z omlazovacích technik před estetickými chirurgickými procedurami jako je např. blefaroplastika či face-lift. V případě těchto chirurgických zákroků byl zaznamenán pokles až o 32 % [47].

Použití botulotoxinu je soustředěno na eliminaci dynamických vrásek, které vznikají aktivitou mimických svalů. Pro vrásky statické totiž nemá aplikace botulotoxinu takový význam, k jejich léčbě však může být používán v kombinaci s jinými metodami estetické korektivní dermatologie. Příkladem za všechny mohou být například dermální výplně. Botulotoxin je vyhledáván i z toho důvodu, že se jedná o poměrně rychlý, téměř bezbolestný ambulantní zákrok. Nejvhodnější je pro osoby od 18 do 65 let. Výsledný efekt je však nejvíce znatelný u pacientů, u kterých nejsou dynamické vrásky příliš hluboké [47].

Vlastní aplikace se provádí vsedě intramuskulárními vpichy velmi tenkou, inzulinovou jehlou tam, kde je účelem přerušit svalovou aktivitu [31]. Přesto, že zákrok není příliš bolestivý, může být dané místo ošetřeno lokálním anestetikem. Paralytický účinek svalu se obvykle dostaví za 3 – 7 dní po aplikaci. Maximální účinek botulotoxinu se dostaví přibližně za 2 týdny [2]. Po aplikaci je vhodné, aby pacient cca 1,5 hodiny intenzivně používal mimické svaly, čímž je zabezpečeno správné a dostatečné vstřebání látky [48]. Dále je doporučeno setrvat po určitou dobu ve vzpřímené poloze a nepředklánět hlavu, aby se zamezilo možné nežádoucí migraci toxinu. Alespoň čtyři dny po zákroku by pacient neměl aktivně sportovat, chodit do sauny a asi týden po zákroku by se měl vyhýbat přímému slunci a soláriu. Všechny zmíněné aspekty by mohli ovlivnit správnost vstřebání naaplikované dávky [49], [32]. Účinnost botulotoxinu je individuální, zpravidla se uvádí 3 – 4 měsíce. V této době dochází k pomalé regeneraci nervosvalového přenosu až do úplného obnovení svalové aktivity [38]. Po tomto období, kdy je svalová aktivita plně funkční, může být zákrok znovu zopakován. Pokud je botulotoxin aplikován pravidelně, dochází k prodloužení časového intervalu, kdy je pro zachování kosmetického efektu potřeba další injekce toxinu [49]. Dlouhodobější aplikací může být zabráněno v přeměně vrásek dynamických na vrás-

ky statické [2]. Časté použití botulotoxinu však představuje možná rizika (viz kapitola 4.5) [50].

4.1 Preparáty botulotoxinu

V dermatologické praxi je používán pouze botulotoxin typu A (dále jen BTX-A), který je také v současné době jediným schváleným sérotypem vhodným k aplikaci [31]. Biologická aktivita BTX-A se uvádí v mezinárodních jednotkách (UI). Jedna jednotka BTX-A je definována jako dávka, která po intraperitoneálním podání (do dutiny břišní) vede do 3 dnů ke smrti 50 % Swiss-Websterových myší o hmotnosti 18 – 20 g. Ze získaných výsledků experimentů byla stanovena LD₅₀ u člověka na cca 40 UI/kg. Pro člověka vážícího 70 kg by tedy LD₅₀ botulotoxinu byla při intraperitoneálním podání mezi 2500 – 3000 UI. Tato dávka se může lišit vzhledem k druhu makroorganismu, pohlaví, cestě podání (intraperitoneálně, perorálně, intramuskulárně), celkové svalové hmotě, rozdílné imunologické odpovědi organismu, apod. [33]. BTX-A je komerčně dostupný preparát, nabízený několika výrobci [31]. Celosvětově jsou nejvíce rozšířeny a používány dva preparáty BTX-A. Jedná se o, Botox[®] vyráběný firmou Allergan, Inc. Irvine v Kalifornii a Dysport[®] vyráběný firmou Ipsen, Ltd. v Maidenheadu v Berkshire v Anglii [34]. Pro kosmetické využití je název přípravku Botox[®] doplněn a označován jako Botox[®] Cosmetic [51]. Jednotky biologické účinnosti jednotlivých preparátů nelze srovnávat kvůli odlišným podmínkám při stanovení LD₅₀ konkrétního produktu [52].

Oba preparáty obsahují čištěný BTX-A získaný z kvašených kultur bakterie *Clostridium botulinum*, který je dodáván v komplexu s hemaglutininem [53], [54]. Terapeuticky využívaný botulotoxin typu A je *in vitro* vázán s hemaglutininem v komplex o molekulové váze 900 kDa [34]. Existují dohady o vzájemné rozdílnosti mezi preparáty. Při porovnávání bioekvivalence obou preparátů se uvádí, že 1 UI Botoxu[®] odpovídá svou biologickou účinností 2 – 5 UI Dysportu[®]. Obecně je přijat a uznán poměr 1:3, kterému odpovídá i poměr dávkování obou preparátů v klinických studiích. Z definice UI ovšem vyplývá, že biologická účinnost jedné UI obou preparátů musí být stejná. Předpokládá se proto, že biologická aktivita se liší kvůli rozdílnému obsahu albuminu v jednotlivých preparátech [33]. Více o výše zmíněných komerčně dostupných prostředcích v Příloze P1.

4.1.1 Ředění a skladování

Před samotným použitím je potřeba daný preparát vhodně naředit. Standardizace ředění stále chybí a názory odborníků se často rozcházejí, přesto je doporučeno používat 0,9% fyziologický roztok bez konzervačních přísad. Co se týče koncentrace botulotoxinu v preparátu, vychází se z poznatku, že tkáňová difuze toxinu roste s klesající koncentrací. Z toho vyplývá, že použitím prostředku s nižší koncentrací BTX-A je dosaženo lepšího šíření toxinu v místě aplikace, což se využívá například ke korekci vrásek v oblasti čela. Obecně se ale připravují preparáty o vyšších koncentracích, aby se minimalizovalo riziko migrace do neplánovaných oblastí [33], [48]. Některé možnosti ředění a výsledné koncentrace preparátu Botox[®] jsou uvedeny v tabulce 1. Ředění neboli rekonstituce preparátu se provádí jemným nástřikem fyziologického roztoku do lahvičky s BTX-A, jemnými pohyby je celý obsah promíchán tak, aby se zabránilo tvorbě pěny, která by mohla vést k denuraci proteinu a snížení účinnosti prostředku [55]. Toto je však zpochybňováno v práci Trindade de Almeida a kol. [56] tím, že nebyl nalezen žádný rozdíl v účinnosti mezi preparátem, u kterého při ředění došlo ke vzniku pěny a preparátem, kde k její tvorbě nedošlo.

Jehla, kterou bylo provedeno naředění roztoku, by neměla být použita pro aplikaci do svalu. Výměnou jehly se předchází bolesti, které by mohlo způsobit její otupění [2].

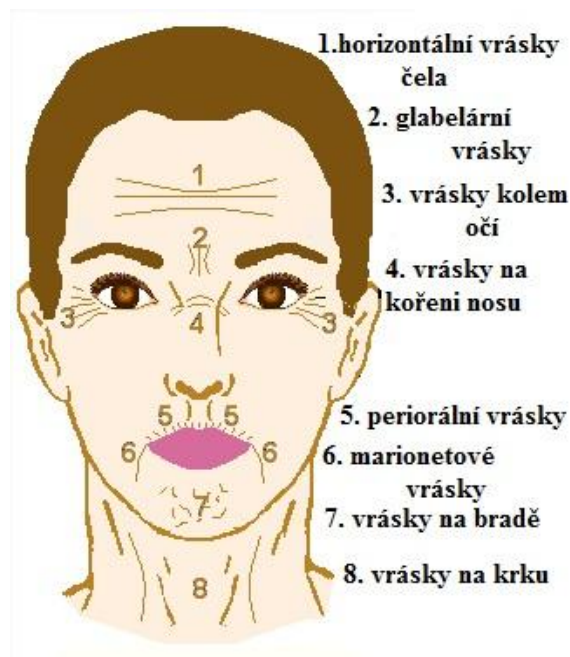
Z důvodu zajištění sterility a účinnosti BTX-A musí být prostředek po naředění skladován při teplotě 2 – 8 °C a spotřebován nejpozději do 8 hodin [47]. Nicméně Hexsel a kolektiv [57] nedávnou studií potvrzují účinnost BTX-A v ředěném preparátu po dobu až 15 dnů. Kromě toho nebyla zaznamenána ani bakteriální kontaminace [57].

Tab. 1. Ředění a výsledné koncentrace preparátu Botox[®] [39]

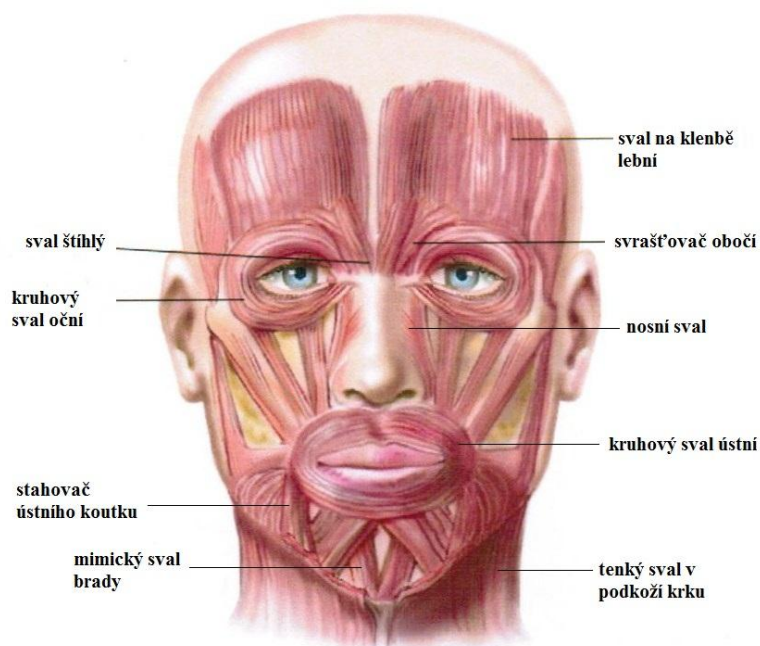
Rekonstituovaný objem v ml	Botox [®] UI/0,1ml	Botox [®] UI/0,05ml
1,0	10	5
2,0	5	2,5
2,2	4,5	2,25
2,5	4	2
4,0	2,5	1,25

4.2 Indikace

Mezi nejčastěji indikované vrásky patří vrásky mezi obočím (glabelární oblast), na čele (frontální oblast) a vějířkovité vrásky u zevního koutku oka (periorbitální oblast). V těchto oblastech se považuje zákrok za bezpečný s minimálními vedlejšími účinky a kosmeticky velmi uspokojivý [31]. Dále mohou být BTX-A ošetřeny vrásky ve střední a dolní oblasti obličeje. Jedná se o vrásky na kořeni nosu, na bradě, krku nebo mandibule (dolní čelist). Pokud je BTX-A využíván ke korekci radiálních vrásek kolem úst, marionetových vrásek, nebo drobných vrásek pod očima, je ošetření spojeno s vyššími riziky nežádoucích účinků [2], [31]. Lokalizace vrásek vhodných pro ošetření jsou zobrazeny na obrázku 9. Obrázek 10 znázorňuje indikované mimické svaly.



Obr. 9. Vrásky vhodné k ošetření botulinem [49]



Obr. 10. Obličejové svaly [2]

Biologický účinek BTX-A zásadně ovlivňuje množství aplikované látky. Stejně jako v případě ředění i standardizace dávkování stále chybí a většinou se vychází ze zkušeností [33]. Dávka BTX-A se liší podle použitého preparátu, lokality, hloubky a typu vrásek [31]. Vždy je však cílem podat co nejmenší dávky, které postačí k navození požadovaného efektu [33]. Všeobecně je preferován přirozenější a uvolněnější vzhled [48].

Lékař, který zákrok provádí, musí dokonale znát anatomii mimických svalů a musí být v dané problematice náležitě proškolen. Přesná technika vstříkávání je zásadní. Již malé nepřesnosti mohou mít totiž za následek významné asymetrie v obličeji. Existují rozdíly v aplikaci u žen a u mužů. Je všeobecně známo, že muži mají více svalové hmoty, proto k dosažení stejného účinku v porovnání se ženami vyžadují větší počet vpichů a jednotek BTX-A (UI) [48]. Pro větší přehlednost, jsou v tabulce 2 uvedeny dávky BTX-A v jednotlivých oblastech a současně i rozdíl v aplikovaných dávkách u žen a u mužů [58]. Z důvodu rozdílnosti výše zmiňovaných výrobků, budou hodnoty o biologické aktivitě (UI), které jsou dále v textu uváděny, odpovídat účinnosti Botoxu®.

Tab. 2. Doporučené dávky botulotoxinu a počet vpichů v jednotlivých lokalizacích

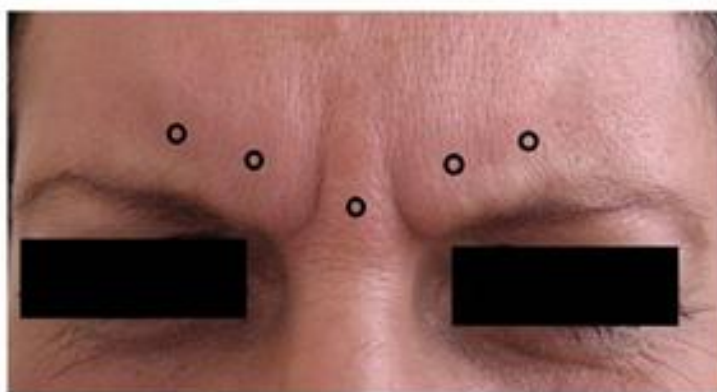
uváděných v jednotkách preparátu Botox® [58]

Místo Léčby		Indikovaný Sval	Počet in- jekčních vpichů	Celkový počet jedno- tek botulotoxinu (UI)	
				Ženy	Muži
Horní oblast obličeje	horizontální vrásky čela	sval na klenbě lební	4 – 9	6 – 15	6 – 15
	glabellární vrásky	sval štíhlý, svraš- ťovač obočí	5 – 7	10 – 30	20 – 40
	vějířkovité vrásky kolem očí	kruhový sval oční	2 – 5*	10 – 30	20 – 30
Střední oblast obličeje	vrásky na kořeni nosu	sval nosní	1*	3 – 5	3 – 5
Spodní oblast obličeje	marionetové vrásky	ploché sval obličeje	1 – 2	6 – 8	6 – 8
	periorální vrásky	kruhový sval ústní	4 – 6*	4 – 12	4 – 12
	vrásky na bradě	mimický sval na bradě	1 – 2	4 – 8	4 – 8
	vrásky na krku	široký tenký sval v podkoží krku	2 – 12*	20 – 35	20 – 35

* počet injekčních vpichů na jedné polovině obličeje; u vrásek na krku počet injekčních vpichů na každém pásmu

4.2.1 Glabelární oblast

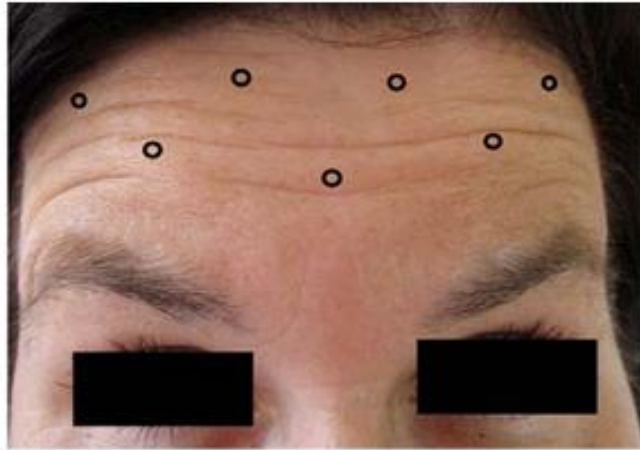
Léčba glabelárních vrásek (vrásek mezi obočím) bývá velmi úspěšná. Za jejich vznik jsou zodpovědné dva svaly, sval štíhlý (*musculus procerus*) a svažovač obočí (*musculus corrugator supercilii*). Při zamračení lze tyto svaly poměrně jednoduše nahmatat, což zaručí dostatečně přesné určení místa vpichu. Nejčastěji je aplikováno celkem 20 – 30 UI BTX-A v pěti místech. Ženy vyžadují obvykle 5×4 UI (objem jedné injekce 0,1 ml), muži 5×6 UI (0,15 ml). Obvykle je použita jedna injekce do štíhlého svalu a čtyři injekce do svalu svažovače obočí – dvě z nich do střední části svalu a dvě do jeho postranní části. Aplikace do svalu svažovače obočí se provádí ve vzdálenosti minimálně 1 cm od okraje očníce [47], [48]. Místa vpichu jsou zobrazeny na obrázku 11.



Obr. 11. Glabelární oblast [47]

4.2.2 Frontální oblast

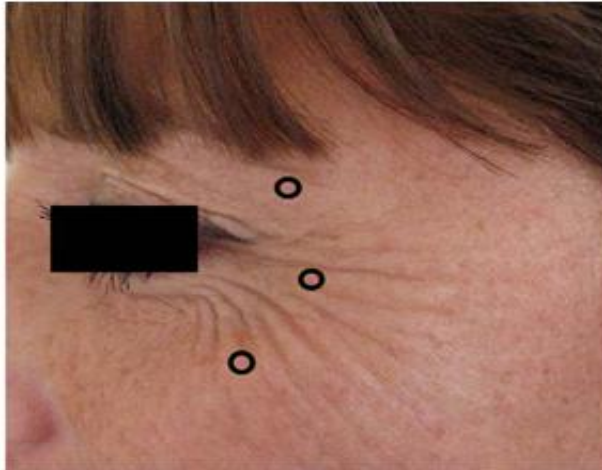
Velmi výraznými vráskami bývají také horizontální vrásky čela, způsobené svalem na klenbě lební (*musculus occipitofrontalis*). Cílem je ponechání určité mobility v oblasti nad obočím pro zachování některých mimických pohybů. Běžně bývá vybráno pět až sedm míst vpichu s trojúhelníkovým rozdělením. Jednotlivé vpichy je nutné umístit v polovině vzdálenosti mezi hranicí vlasů a obočím. Krajiní injekce by měly být aplikovány tak, aby příliš neovlivnili běžné pohyby obočí [47], [48]. Lokalizace vpichů je znázorněna na obrázku 12. Doporučené dávkování v této oblasti je uváděno v rozsahu 6 – 15 UI BTX-A. Důležitým faktorem je velikost čela pacienta. V případě nízkého čela může u pacienta nastat nežádoucí pokles obočí. Naopak pacienti s širšími nebo vysokými čely mohou vyžadovat větší počet injekcí [58].



Obr. 12. Frontální oblast [47]

4.2.3 Periorbitální oblast

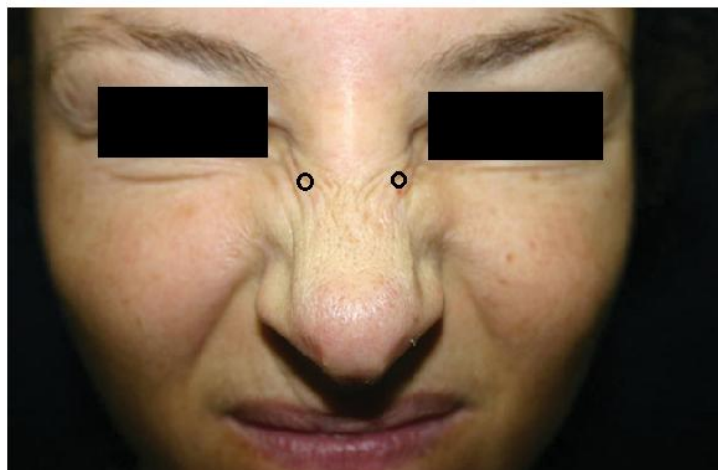
V periorbitální oblasti dochází ke vzniku vějířkovitých vrásek u zevního koutku oka, které jsou známy pod označením „crow's feet“ (v překladu vraní noha). Vznikají kontrakcí kruhového svalu očního (*musculus orbicularis oculi*) a na obličeji se začnou objevovat už při dovršení 20 – 25 let. Z počátku se jeví jen jako vrásky dynamické, ale postupně se vyvíjí ve vrásky statické [47], [48]. Pro úspěšné vyhlazení se obvykle provádí 2 – 5 bočních vpichů na každém oku [58]. V případě, že budou aplikovány pouze 3 dávky BTX-A je prostřední injekce vpravena ve vzdálenosti minimálně 1 cm od okraje očnice, aby se zabránilo komplikacím, které mohou být vyvolány šířením toxinu celým svalem. Následující injekce jsou aplikovány ve vzdálenosti 1 – 2 cm pod a nad prostřední injekcí a ve stejné vzdálenosti od okraje očnice. Vhodným výběrem horní injekce pod obočím může být dosaženo nadzvednutí obočí dle přání pacienta, čímž je zároveň zvýšen i estetický efekt zákroku [47], [48]. Místa vpichů jsou znázorněny na obrázku 13. Doporučené dávkování BTX-A je uváděno v rozsahu 5 – 15 UI na každém oku [58].



Obr. 13. Periorbitální oblast [47]

4.2.4 Oblast kořene nosu

Ke vzniku vrásek na kořeni nosu dochází aktivitou nosního svalu (*musculus nasalis*). Vrásky v této oblasti bývají označovány také jako „Bunny lines“ (v překladu „zajíčkovy linky“). Jedná se o horizontální vrásky směřující od kořene nosu k vnitřnímu koutku oka. Doporučuje se, aby léčba těchto vrásek byla spojena s léčbou vrásek glabelárních. Optimální počet dávek BTX-A do nosního svalu je udáván v rozmezí 3 – 5 UI na každé boční straně hřbetu nosu [48]. Místa vpichu jsou zobrazeny na obrázku 14.



Obr. 14. Oblast kořene nosu [2]

4.2.5 Spodní oblast obličeje

Léčba spodní oblasti obličeje vyžaduje pokročilejší znalosti injekční techniky, příslušné anatomie a také větší zkušenosti se samotnou aplikací. Svalové skupiny jsou zde méně zřetelné, což znesnadňuje přesnost při dodání BTX-A na určené místo [2]. Nyní konkrétněji k jednotlivým typům vrásek, vznikajících ve spodní části obličeje:

- a) Marionetové vrásky (spadlé ústní koutky) způsobuje plochý sval obličeje (*musculus depressor anguli oris*), který táhne koutky úst dolů. Pro ošetření těchto vrásek se aplikuje dávka 3 – 4 UI BTX-A na každé straně úst, ve vzdálenosti minimálně 1 cm laterálně od ústních koutků [2], [58]. V současnosti se však od aplikace v této oblasti opouští a je nahrazována vhodnějšími metodami, například kolagenovými výplněmi [50].
- b) Periorální vrásky neboli vrásky kolem úst vznikají v důsledku vysoké aktivity kruhového svalu ústního (*musculus orbicularis oris*). Aplikují se dvě injekce na každé straně nad horním rtem a dvě injekce na každé straně pod spodním rtem [58]. Aplikace musí být ve stejné vzdálenosti od středu, aby byla zachována správná symetrie rtů [2]. Běžně je pro vyhlazení periorálních vrásek používána dávka v rozsahu 4 – 5 UI. Existují však výjimky, při kterých je pro dosažení požadovaného efektu potřeba 10 – 12 UI BTX-A [58].
- c) Vrásky na bradě vznikají aktivitou mimického svalu (*musculus mentalis*) [2]. Tyto vrásky mohou být BTX-A eliminovány při použití dávky 4 – 8 UI, které jsou vpraveny do středu brady [58].
- d) Tzv. „pásky“ na krku, se začínají objevovat s přibývajícím věkem. Během stárnutí totiž dochází k oddělení širokého tenkého svalu v podkoží krku (*musculus platysma*). Maximální dávka používající se pro ošetření vrásek na krku se pohybuje v rozmezí 20 – 35 UI BTX-A [58], přičemž jsou jednotlivé injekce aplikovány od sebe vždy ve vzdálenosti 4 cm [2].

4.3 Kontraindikace

Aplikaci botulotoxinu nemohou podstoupit těhotné a kojící ženy, děti a pacienti s poruchami neuromuskulárního přenosu a neurodegenerativních chorob. Nemůže být aplikován osobám s přecitlivělostí na BTX – A, nebo lidský albumin. Nevhodná je aplikace

toxinu do oblasti s infekčním onemocněním. Problém představuje i výskyt otoků, protože je znemožněn odhad difuze toxinu. Existuje riziko zvýšení efektu BTX – A užíváním antibiotik na bázi aminoglykosidů, nebo léků působících na nervosvalové ploténce. Na druhou stranu některé léky jako antimalarika a imunosupresiva mohou účinek BTX – A naopak snižovat [31], [47].

4.4 Komplikace

Jako u všech procedur, i v případě aplikace BTX-A může docházet ke komplikacím. Jejich výskyt je pozorován u velmi malého procenta pacientů a z velké části jsou způsobeny špatně provedeným zákrokem. Při vhodně zvolené dávce BTX-A, správně určeném místě aplikace i jejím provedením, spolu s vyloučením osob nevhodných pro zákrok, nehrozí otrava pacienta. I když BTX-A používaný v korektivní dermatologii ani zdaleka nedosahuje letální dávky pro člověka, snahou zůstává používat co nejmenší množství tohoto preparátu, které však postačí k navození kýženého efektu. Pro zajímavost, pro člověka vážícího cca 70 kg se smrtelná dávka odhaduje přibližně na 2800 UI BTX-A. [59]. Obecně platí, že vyšší koncentrací BTX-A je umožněno přesnější umístění, což vede k minimalizaci komplikací a současně k delší účinnosti. Stejně jako vyhlazení vrásek je pouze dočasná záležitost, i potíže spojené s aplikací BTX-A jsou pouze přechodné [50].

Nejčastěji hlášenými nežádoucími účinky je výskyt modřin, bolest v místě vpichu a bolest hlavy. Modřiny jsou nejvíce pozorovány při aplikaci v periorbitální oblasti, kde se nachází velmi křehké cévy [60]. Výskyt modřin se může snížit u pacienta, který se může vyhnout užívání produktů, jako je aspirin, nesteroidní protizánětlivé látky a vysokým dávkám vitamínu E po dobu 10-ti dnů před zákrokem. Bolest v místě vpichu lze minimalizovat přiložením studeného obkladu na místo před a po aplikaci, použitím tenké jehly a výměnou jehly cca po 3 – 4 použití [50], [59]. Předpokládá se, že bolesti hlavy stejně jako modřiny a bolesti v místě vpichu souvisí s provedením a ne s BTX-A jako takovým [59]. Dalšími pozorovanými nežádoucími účinky jsou nevolnost, malátnost, příznaky podobné chřipce, únava a vyrážky na místech, které jsou vzdáleny od míst aplikace. Dochází k nim pravděpodobně kvůli šíření malého množství toxinu do oběhového systému [50].

Nežádoucí účinky se mohou lišit podle ošetřené oblasti. Nejvýznamnější komplikací, která může nastat při léčbě glabelárních vrásek je ptóza horního víčka. Ptóza (neboli pokles) je způsobena šířením toxinu na sval zdvihač horního víčka (*musculus levator palpebrae*

superioris). Tento jev se může projevit v průběhu 2 – 10 dní po aplikaci a může trvat 2 až 4 týdny. Ptóze víčka lze předejít, pokud se botulotoxinové injekce aplikují minimálně 1 cm nad okraj očníce, nebo působením tlaku na daný sval. Působením tlaku se rozumí uchopení svalu svrašťovače obočí při zamračení mezi palcem a ukazováčkem jedné ruky. Tlak snižuje šíření toxinu do okolních svalů [60].

V léčbě horizontálních vrásek čela se vyskytuje rovněž ptóza horního víčka nebo ptóza obočí. Pro zabránění této komplikace se doporučuje aplikovat injekce minimálně 2 cm nad obočím. Důležité je také zvážení léčby vrásek v této oblasti u pacientů s nízkými čely nebo u těch, kde se ptóza obočí již projevila. Nesprávným provedením zákroku může dojít i k neúmyslnému zvednutí obočí. Kromě toho, příliš vysokými dávkami může být mimika ovlivněna natolik, že pacient ztrácí výraz obličeje a vypadá nepřirozeně [60].

V případě aplikace BTX-A v periorbitální oblasti se mohou komplikace projevovat ochablostí dolního víčka, dvojitým viděním, nařasením kůže na spodním víčku a také ptózou rtů. Aby se zabránilo těmto komplikacím, provádí se aplikace nejméně 1 cm od okraje očníce nebo 1,5 cm od vnějšího koutku oka. U starších pacientů, pacientů s prodělanou operací dolních víček a pacientů s vyšší laxností dolního víčka se zákrok nedoporučuje [50], [60].

Jak již bylo zmíněno výše, ošetření vrásek na spodní oblasti obličeje je spojeno s nižší přesností aplikace BTX-A, což zvyšuje pravděpodobnost komplikací [2]. Při korekci vrásek kolem úst může být zaznamenán například asymetrický úsměv, nebo kousání vnitřní tváře, či slintání. Tyto komplikace však bývají minimalizovány při použití velmi malých dávek [50]. Při léčbě vrásek na bradě může vysoká dávka toxinu vést k neschopnosti pevně přiblížit spodní ret k zubům. Pokud se tato komplikace projeví, dochází u pacienta k nedobrovolnému slintání [2]. Co se týče ošetření vrásek na krku, jsou možná rizika nasnadě, jelikož jsou zde použity vysoké dávky BTX-A. Jedná se o komplikace v podobě ochabnutí krčních svalů, dysfagie (porucha polykání) a zřídka dysfonie (porucha hlasu) [50].

Přestože se komplikace často nevyskytují, musí být o nich pacient vždy náležitě informován. Měl by být také důkladně seznámen, jakým způsobem bude zákrok prováděn, s dobou nástupu účinku a jeho trváním. Pacient musí také od lékaře obdržet pokyny, které je nutné bezprostředně po aplikaci dodržovat. Na základě poskytnutých informací je povinen podepsat informovaný souhlas [2], [50].

4.5 Řešené otázky související s použitím botulotoxinu

S rostoucími možnostmi uplatnění BTX-A ke kosmetickým i lékařským účelům stoupá také počet studií poukazujících na problematiku spojenou s jeho dlouhodobou aplikací [50].

Největší problém související s použitím BTX-A je pravděpodobně tvorba protilátek, které blokují odezvu organismu na BTX-A. Korekce vrásek touto metodou tak přestává mít význam, jelikož BTX-A již není účinnou látkou. Prevalence rezistence je menší než 5 % a je pravděpodobně spojená s dávkováním a frekvencí léčby, nikoliv však s celkovou délkou terapie. Tyto údaje jsou však vztaženy ke starším typům preparátů, které obsahovaly více proteinů v porovnání s novějšími druhy [50]. Komplexotvorné proteiny v prostředí totiž podle Freverta a kol. [61] patrně stimulují produkci protilátek proti neurotoxinu, aniž by jejich přítomnost jinak ovlivňovala stabilitu či omezovala šíření BTX-A v místě vpichu. Z tohoto důvodu byl snížen obsah proteinů v preparátech o více než 20 %. Faktory, vedoucí u pacienta k predispozici tvorby protilátek, nejsou stále jednoznačné. Zkušenosti však ukazují, že riziko rezistence se zvyšuje s opakovanými dávkami BTX-A [50].

Studii, která byla provedena doktorem Herzogem a jeho týmem [62] z Fakulty kineziologie na univerzitě v kanadském Calgary bylo zjištěno, že dlouhodobé používání botulotoxinu způsobuje svalovou ochablost a atrofii. Test byl realizován na laboratorních myších, kterým byl injekčně aplikován neurotoxin bakterie *Clostridium botulinum* (Botox[®] od firmy Allergan, Inc). Po jeho expozici byla u myši pozorována ochablost svalstva na celém těle i mimo místa vpichu. Dále shledala, že opakovaná dávka může způsobovat atrofii svalstva a ztrátu kontraktilní tkáně i v místě, kde botulotoxin nebyl přímo aplikován. V experimentu bylo k posouzení svalové ochablosti a vzniku atrofie použito vyšších koncentrací botulotoxinu. Přesto však by měly být podle autora získané výsledky zohledněny při jakémkoli zákroku, ve kterém dochází k podání tohoto toxinu, tedy i v případě korekce vrásek. [62].

Další, v současnosti velmi diskutovanou otázkou, která sice s dlouhodobou expozicí botulotoxinu nesouvisí, je migrace tohoto toxinu v organismu. Pochopení této problematiky je však důležité pro objasnění možných nežádoucích účinků, které může opakovaná aplikace botulotoxinu představovat. Skutečnost, že botulotoxin dokáže po vpravení do organismu migrovat okolními tkáněmi je vědcům již známa, předpokládali však, že není schopen procházet přes stěnu mozkových cév a tudíž se dostat do mozku. Tuto domněnku vyvrátili

ve své studii [63] vědci z italského institutu National Research Council of Neuroscience v Pise. Experimentem, bylo zjištěno, že se botulotoxin může do mozku šířit prostřednictvím nervů. Test byl proveden u potkanů, kterým byla aplikována dávka toxinu do svalů, odpovídajících za pohyb hmatových vousků. Po třech dnech byla zkoumána mozková tkáň a byly objeveny pozůstatky botulotoxinu v části, kde jsou zpracovávány signály z hmatových vousků. Vědci tak došli k teorii, že je toxin přenesen ze svalu do mozku pomocí axonů (nervových výběžků). Kromě možných komplikací, souvisejících s transportem toxinu nervovou soustavou až do mozku, může být tento poznatek také předpokladem k vývoji nových metod při léčbě epilepsie. Existuje však stále mnoho nezodpovězených otázek, týkajících se migrace a způsobu šíření botulotoxinu. Měla by proto být této problematice i nadále věnována velká pozornost odborníků i vědeckých týmů [63].

ZÁVĚR

Cílem práce bylo popsat metodu korekce vrásek aplikací botulotoxinu. Po prostudování dostupných materiálů na dané téma bylo zjištěno následující:

- Stárnutím dochází v jednotlivých vrstvách kůže k výrazným změnám. Kůže se pomaleji obnovuje, je méně hydratovaná, ztrácí mechanickou odolnost a elasticitu. Prvotním projevem těchto změn jsou vrásky, což jsou různě hluboké linie, které narušují hladkou kontinuitu kůže. Jako první se na obličeji objevují dynamické (mimické) vrásky, které vznikají pohybem mimických svalů za současného tahu kůže. Jak kůže stárne, není schopna neustále odolávat opakovanému namáhání a dynamické vrásky začínají být viditelné i bez pohybu svalů. Stávají se tak vráskami statickými. Z estetického hlediska jsou tyto projevy stárnoucí kůže nežádoucí. Současným trendem se proto stává eliminace vrásek dostupnými metodami, přičemž zájem o tyto zákroky stále stoupá.
- Mezi jednu z nejvyhledávanějších metod v korekci vrásek patří aplikace botulotoxinu. Tato metoda využívá toxin pro navození nervosvalové paralýzy, během které je znemožněna svalová kontrakce. Kromě boje s nežádoucími projevy stárnutí a dermatologie našel botulotoxin, po objasnění jeho mechanismu účinku uplatnění také v jiných oborech medicíny
- Po chemické stránce je botulotoxin protein, skládající se ze dvou řetězců, lišících se od sebe svou molekulovou hmotností. Oba řetězce jsou bakterií syntetizovány samostatně a samy o sobě nejsou toxické. K aktivaci dochází až spojením obou řetězců v molekulu botulotoxinu během sekrece z buňky. Vlastní toxická aktivita je pak záležitostí pouze tzv. lehkého řetězce, který působí jako zinek – dependentní proteáza.
- Botulotoxin je řazen mezi neurotoxiny. Je produkován grampozitivní, anaerobní, sporulující bakterií *Clostridium botulinum*. Do současné doby je známo na 8 sérotypů, z nich 7 je schopno navodit nervosvalovou paralýzu. Jednotlivé sérotypy, značené písmeny A - G jsou produkovány různými kmeny této bakterie. Ke komerčním účelům je schválen a využíván botulotoxin typu A, který je z uvedených sérotypů nejtoxičtější a zároveň neprostudovanější. K léčbě cervikální dystonie je schválen i botulotoxin typu B.

- Botulotoxin je pro terapeutické využití vázán v komplexu s netoxickým proteinem hemaglutininem, který při parenterálním podání zlepšuje jeho stabilitu a zpomaluje difúzi do okolních tkání. Celosvětově jsou nejvíce rozšířeny a využívány preparáty Botox[®] a Dysport[®]. Jejich biologická aktivita je uváděna v mezinárodních jednotkách (UI).
- Svalové paralýza, způsobená podáním toxinu je pouze dočasný jev, tudíž se vrásky postupně znovu objevují. Doba působení závisí na dávce botulotoxinu, typu a hloubce vrásek. Zpravidla se uvádí 3 – 4 měsíce. Standardizace dávkování stále chybí a většinou se vychází ze zkušeností.
- Touto metodou je nejčastěji indikována oblast glabelární, frontální, periorbitální a oblast kořene nosu. V menší míře se provádí i léčba spodní oblasti obličeje, při které je zapotřebí pokročilejší znalosti injekční techniky.
- Komplikace spojené s aplikací botulotoxinu jsou pozorovány u velmi malého procenta pacientů. V souvislosti se samotnou injekcí to jsou nejčastěji modřiny, bolest v místě vpichu a bolest hlavy. V některých případech může dojít k šíření malého množství toxinu do oběhového systému, což se projevuje nevolností, malátností, únavou a příznaky podobnými chřipce. Další možné komplikace jsou ve velké většině způsobené nepřesností v injekční technice.
- Bylo prokázáno, že opakovaná aplikace botulotoxinu u některých pacientů vede k rezistenci, tvorbou protilátek. V tomto případě, nedochází k požadovanému efektu a zákrok přestává mít smysl. Dalším problémem dlouhodobého použití je v navození ochablosti a atrofie svalstva.
- Velmi diskutovanou problematikou související s aplikací botulotoxinu je jeho migrace z místa vpichu do okolních tkání. Nedávnou studií bylo prokázáno, že díky nervové soustavě může být toxin transportován až do mozku. Kromě možných rizik, která tímto zjištěním vznikají, může být tento poznatek uplatněn při vývoji nových metod při léčbě epilepsie. Existuje však ještě mnoho otázek, které je v této souvislosti potřeba zodpovědět.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] DAYAN, N. *Skin aging handbook*. Norwich, NY: William Andrew, 2008, 494 s. ISBN 08-155-1584-7.
- [2] BAUMANN, L. *Cosmetic dermatology and medicine: principles and practice*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2009, 366 s. ISBN 978-007-1641-289.
- [3] LITVIK, R. Hormonální stárnutí kůže. *Dermatologie pro praxi*. 2008, roč. 2, č. 5-6, s. 226-229. ISSN 1802-2960.
- [4] LANGTON, A. K., SHERRATT, M. J., GRIFFITHS, C. E. M. a WATSON, R. E. B. A new wrinkle on old skin: the role of elastic fibres in skin ageing. *International journal of cosmetic science*. 2010, roč. 32, č. 5, s. 330-339. ISSN 1468-2494.
- [5] BAUMANN, L. Skin ageing and its treatment. *The Journal of Pathology*. 2007, roč. 211, č. 2, s. 241-251. ISSN 0022-3417.
- [6] PERCIVAL, S. L. *Microbiology and Aging Clinical Manifestations*. Totowa, NJ: Humana Press, 2009. ISBN 978-159-7453-271.
- [7] KOHL, E., STEINBAUER, J., LANDTHALER, M. a SZEIMIES, R.M. Skin ageing. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology JEADV*. 2011, roč. 25, č. 8, s. 873–884. ISSN 1468-3083.
- [8] KLAUZOVÁ, K. Stárnutí kůže, rejuvencace. *Referátový výběr z dermatovenerologie: odborný čtvrtletník*. 2011, roč. 53, Spec. 2, s. 20-30. ISSN 1213-9106.
- [9] TROJANOVÁ, P., ALRADHI, F. a HRUBÁ, Dr. Kouření a stárnutí kůže. *Hygiena: časopis pro ochranu a podporu zdraví*. 2011, roč. 56, č. 1, s. 22-25. ISSN 1802-6281.
- [10] MOSKALYKOVÁ, M. Skin Aging. *Referátový výběr z dermatovenerologie: odborný čtvrtletník*. 2009, roč. 51, Spec. 3, s. 9-16. ISSN 1213-9106.
- [11] RACEK, J. a HOLEČEK V. Enzymy a volné radikály. *Chemické listy*. 1999, roč. 93, č. 12, s. 774–780. ISSN 0009-2770.
- [12] PLÁTENÍK, J. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní medicína pro praxi*. 2009, roč. 11, č. 1, s. 30-33. ISSN 1212-7299.

- [13] ARENBERGER, P. Stárnutí kůže. *Postgraduální medicína: odborný časopis pro lékaře*. 2008, roč. 10, č. 7, s. 805-807. ISSN 1212-4184.
- [14] MAŘÍKOVÁ, H. Telomery a telomerasa: jejich vztah k buněčnému stárnutí a rakovině. *Pohybové ústrojí: pokroky ve výzkumu, diagnostice a terapii*. 2009, roč. 16, č. 3-4, s. 162-170. ISSN 1212-4575.
- [15] BOUKAMP, P. Ageing mechanisms: the role of telomere loss. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2001, roč. 26, č. 7, s. 562-565. ISSN 0307-6938.
- [16] THE NOBEL ASSEMBLY AT KAROLINSKA INSTITUTET. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009: "how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase". The Nobel Committee for Physiology or Medicine. [online]. 2009 [cit. 2012-04-01]. Dostupné z: <http://www.nobelprize.org>.
- [17] PRITCHARD, D. J. a KORF, B. R. *Základy lékařské genetiky*. 1. české vyd. Praha: Galén, 2007, 182 s. ISBN 978-807-2624-492.
- [18] JIANG, H., JU, Z. a RUDOLPH, K. L.. Telomere shortening and ageing. *Z Gerontol Geriat*. 2007, roč. 40, s. 314-324. ISSN 0948-6704.
- [19] DITRICHOVÁ, D., JANSOVÁ M. a OPAVSKÝ, R. *Repetitorium dermatovenerologie*. 1. vyd. Olomouc: Epava, 2002, 304 s. ISBN 80-862-9708-X.
- [20] NAYLOR, E. C., WATSON, R. E.B. a SHERRATT, M. J.. Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*. 2011, roč. 69, č. 3, s. 249-256. ISSN 0378-5122.
- [21] KOČÁREK, E. *Biologie člověka*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2010, 336 s. Biologie pro gymnázia. ISBN 978-808-6960-470.
- [22] LAM, M. a SULINDRO, M. Aging Skin. *Academy of Anti-Aging Research*. [online] 2003, č. 1. [cit. 2012-02-07] Dostupné z: <http://www.drlam.com/pictures/pdf/agingskin.pdf>.
- [23] PETERKOVÁ, P. a LAPČÍK, L. ml. Kolagen - vlastnosti, modifikace a aplikace. *Chemické listy*. 2000, roč. 94, č. 6, s. 371-379. ISSN 0009-2770.
- [24] BAREL, A., PAYE, M. a MAIBACH, H. I. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, 2009, 869 s. ISBN 14-200-6963-2.

- [25] OBŠIL, T. a Z. PAVLÍČEK. Glykace proteinů a fosfolipidů: Maillardova reakce in vivo. *Chemické listy*. 1997, roč. 91, s. 558-569. ISSN 0009-2770.
- [26] SCHMID, D., MUGGLI, R., ZÜLLI, F. Collagen glycation and skin aging. *Cosmetic and Toiletries Manufacture Worldwide*. [online] 2002, s. 118 – 124. [cit. 2012-04-18]. Dostupné z: http://www.mibellebiochemistry.com/pdfs/Collagen_glycation_and_skin_aging_-_CT_2002.pdf.
- [27] IGNÁC, H., KRAMÁŘOVÁ, D. a BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie I.: pro studenty kombinované formy studia*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. ISBN 978-80-731-495-7.
- [28] KYKALOVÁ, K. Vrásky - klasifikace a kombinované metody řešení. *Referátový výběr z dermatovenerologie: odborný čtvrtletník*. 2009, roč. 51, Spec.3, s. 50-56. ISSN 1213-9106.
- [29] DATTA, H. S., MITRA, S. K., PARAMESH, R. a PATWARDHAN, B. Theories and Management of Aging: Modern and Ayurveda Perspectives. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011, roč. 2011, s. 1-6. ISSN 1741-427x.
- [30] BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A. a VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.
- [31] KULÍKOVÁ, Z. Botulotoxin a jeho využití v dermatologii. *Dermatologie pro praxi*. 2009, roč. 3, č. 3, s. 136-138. ISSN 1802-2960.
- [32] RŮŽIČKOVÁ-JAREŠOVÁ, L. Botulotoxin a jeho použití. *Referátový výběr z dermatovenerologie*. 2008, roč. 50, Spec. 3, s. 73-76. ISSN 1803-778X.
- [33] KRHUT, J. Botulotoxin - struktura, mechanismus účinku a klinické použití. *Urologie pro praxi*. 2006, roč. 7, č. 6, s. 278-282. ISSN 1213-1768.
- [34] KAŇOVSKÝ, P. Botulotoxin a jeho role v léčbě neurologických onemocnění. *Neurologie pro praxi*. 2001, roč. 2, č. 2, s. 42-46. ISSN 1213-1814.
- [35] PATOČKA, J. Trendy v terapii botulismu. *Kontakt*. 2010, roč. 12, č. 2, s. 207-211. ISSN 1212-4117.

- [36] BRIN, M. F. Botulinum toxin: Chemistry, pharmacology, toxicity, and immunology. *Muscle & Nerve*. 1997, roč. 20, č. 6, 146–168. ISSN 1097-4598.
- [37] KRAUS, J. Botulotoxin A v terapii spasticity při dětské mozkové obrně. *Postgraduální medicína: odborný časopis pro lékaře*. 2003, roč. 5, č. 8, s. 839-841. ISSN 1212-4184.
- [38] SALTİ, G. a GHERSETICH, I. Advanced botulinum toxin techniques against wrinkles in the upper face. *Clinics in Dermatology*. [online] 2008, roč. 26, č. 2, s. 182-191. [cit. 2012-03-10] Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X07001927>
- [39] LIPHAM, W. J. *Cosmetic and clinical applications of Botox and dermal fillers*. 2nd ed. Thorofare, NJ: SLACK, 2008, 168 s. ISBN 15-564-2796-4.
- [40] EHLER, E. Nové perspektivy botulotoxinu. *Neurologie pro praxi*. 2009, roč. 10, č. 2, s 91-93. ISSN 1213-1814.
- [41] BENEDETTO, A. V. *Botulinum Toxin in Clinical Dermatology*. London: Informa Healthcare, 2005. ISBN 02-034-9505-5.
- [42] ROKYTA, R. *Fyziologie: pro bakalářská studia v medicíně ošetrovatelství, přírodovědných, pedagogických a tělovýchovných oborech*. 2. přepracované vydání. Praha 6: ISV nakladatelství, 2008. ISBN 80-86642-47-X.
- [43] BRUNGER, A. T., SUTTON, R. B., FASSHAUER, D. a JAHN, R. Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 Å resolution. *Nature*. 1998, roč. 395, č. 6700, s. 347-353. ISSN 0028-0836.
- [44] ARNON, S.S., a kolektiv. Botulinum toxin as a biological weapon: Medical and public health management. *JAMA: the journal of the American Medical Association*. 2001, roč. 285, č. 8, s. 1059-1070. ISSN 0098-7484.
- [45] Botulinické neurotoxiny. *Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě* [online]. [cit. 2012-03-20]. Dostupné z: <http://www.zuova.cz/informace/nrlpab13.php>.
- [46] BUSHARA, K.O., PARK, D.M., JONES, J.C. a SCHUTTA, H.S. Botulinum toxin-a possible new treatment for axillary hyperhidrosis. *Clinical and Experimental Dermatology* [online] 1996; roč. 21, č. 4, s. 276–278. [cit. 2012-03-20] Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2230.1996.tb00093.x.

- [47] JASPERS, G.W.C., PIJPE, J. a JANSMA, J. The use of botulinum toxin type A in cosmetic facial procedures. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2011, roč. 40, č. 2, s. 127-133. ISSN 0901-5027.
- [48] WARD, A. B. a BARNES, M. P. *Clinical uses of botulinum toxins*. New York: Cambridge University Press, 2007, s. 328-348. ISBN 05-218-3304-3.
- [49] Botulotoxin A. *Vrásky: a způsoby jejich odstranění* [online]. 2010 [cit. 2012-02-07]. Dostupné z: <http://www.vrasky.biz/botulotoxin-a/>.
- [50] KLEIN, A. W. Complications, Adverse Reactions, and Insights With the Use of Botulinum Toxin. *Dermatologic Surgery*. 2003, roč. 29, č. 5, s. 549-556. ISSN 1076-0512.
- [51] *Botox® Cosmetic: onabotulinumtoxinA* [online]. 2012 [cit. 2012-03-20]. Dostupné z: <http://www.botoxcosmetic.com/home.aspx>.
- [52] Drugs at FDA: FDA Approved Drug Products. *U.S. Food and Drug Administration: Protecting and Promoting Your Health* [online]. [cit. 2012-03-20]. Dostupné z: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>.
- [53] *Allergan: Our pursuit. Life's potential*. [online]. 2012 [cit. 2012-03-20]. Dostupné z: <http://www.allergan.com/index.html>.
- [54] *IPSEN: Innovation for patient care* [online]. 2011 [cit. 2012-03-20]. Dostupné z: <http://www.ipsen.ltd.uk/>.
- [55] KLEIN, A.W. Dilution and storage of botulinum toxin. *Dermatologic Surgery*. [online] 1998, roč. 24, č. 11, s. 1179-1180. [cit. 2012-04-05] Dostupné z: [http://doi.wiley.com/10.1016/S1076-0512\(98\)00178-2](http://doi.wiley.com/10.1016/S1076-0512(98)00178-2).
- [56] TRINDADE DE ALMEIDA, A. R., KADUNC, B. V., DI CHIACCHIO, N. a NETO, D. R. Foam During Reconstitution Does Not Affect the Potency of Botulinum Toxin Type A. *Dermatology Surgery*. [online] 2003, roč. 29, č. 5, s. 530-532. [cit. 2012-04-05] Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1524-4725.2003.29125.x>.

- [57] HEXSEL, D., RUTOWITSCH, M. S., M. DE CASTRO, L. C., ZECHMEISTER DO PRADO, D. a MOREIRA LIMA, M. Blind Multicenter Study of the Efficacy and Safety of Injections of a Commercial Preparation of Botulinum Toxin Type A Reconstituted up to 15 Days Before Injection. *Dermatologic Surgery*. 2009, roč. 35, č. 6, s. 933-940. ISSN 1076-0512.
- [58] DRAELOS, Z. K. *Cosmetic dermatology: products and procedures*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell Pub., 2010, 532 s. ISBN 14-051-8635-6.
- [59] VARTANIAN, A. J. a DAYAN, S. H. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. 2005, roč. 13, č. 1, s. 1-10. ISSN 1064-7406.
- [60] PENA, M. A., ALAM, M. a YOO, S. S. Complications With the Use of Botulinum Toxin Type A for Cosmetic Applications and Hyperhidrosis. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. [online] 2007, roč. 26, č. 1, s. 29-33. [cit. 2012-04-05] Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1085562906001143>.
- [61] FREVERT a DRESSLER. Complexing proteins in botulinum toxin type A drugs: a help or a hindrance?. *Dove Press: open access to scientific and medical research* [online]. 2010, č. 4, s. 325–332 [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3010823/>
- [62] FORTUNA, R., AURÉLIO VAZ, M., REHAN YOUSSEF A., LONGINO D. a HERZOG, W. Changes in contractile properties of muscles receiving repeat injections of botulinum toxin (Botox). *Journal of Biomechanics*. 2011, roč. 44, č. 1, s. 39-44. ISSN 0021-9290. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021929010004537>.
- [63] SMITH, K. Botox toxin gets into rat brains. *Nature: International weekly journal of science* [online]. 2008. [cit. 2012-04-13] DOI: 10.1038/news.2008.719. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/news.2008.719>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

%	Procento
°C	Stupeň Celsia
AGE	Konečné produkty glykace
apod.	A podobně
BTX-A	Botulotoxin typu A
cm	Centimetr
C	Uhlík
Da	Dalton
DEJ	Dermoepidermální junkce
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
FDA	Food and Drugs Administration
g	Gram
GAG	Glykosaminoglykany
Gly	Glycin
H	Heavy
Inc.	In corporation
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
kol.	Kolektiv
L	Light
LD ₅₀	Letální dávka
Ltd.	Limited company
ml	Mililitr
mm	Milimetr

M1	Mortality stage 1
M2	Mortality stage 2
MMP	Matrixmetalloproteináza
MMP-1	Kolagenáza
MMP-2	Gelatináza
nm	Nanometr
NSF	N-ethylmaleimide sensitive fusion protein
Obr.	Obrázek
resp.	Respektive
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SNAP 25	Synaptosomal associated protein
SNARE	Termed soluble NSF-attachment protein receptors
Tab.	Tabulka
tzn.	To znamená
tzv.	Takzvaný
UI	Mezinárodní jednotka
USA	Spojení státy americké
UV	Ultrafialové záření
UVA	Ultrafialové záření o vlnové délce cca. 320 - 400 nm
UVB	Ultrafialové záření o vlnové délce cca. 280 - 320 nm
VAMP	Vesicle associated membrane protein
µm	Mikrometr

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.	Struktura chromosomu.....	14
Obr. 2.	Buněčné a extracelulární složky mladé pleti.....	16
Obr. 3.	Elastická vlákna uložená v kůži dle stupně zralosti.....	20
Obr. 4.	Vrása – řez kůží.....	23
Obr. 5.	Molekula botulotoxinu.....	25
Obr. 6.	Schéma normálně probíhajícího nervosvalového přenosu.....	28
Obr. 7.	Aktivace molekuly toxinu.....	29
Obr. 8.	Schéma blokace nervosvalového přenosu po intoxikaci botulotoxinem...	30
Obr. 9.	Vrásky vhodné k ošetření botulotoxinem.....	34
Obr. 10.	Obličejové svaly.....	35
Obr. 11.	Glabelární oblast.....	37
Obr. 12.	Frontální oblast.....	38
Obr. 13.	Periorbitální oblast.....	39
Obr. 14.	Oblast kořene nosu.....	39

SEZNAM TABULEK

Tab. 1.	Ředění a výsledné koncentrace preparátu Botox [®]	33
Tab. 2.	Doporučené dávky botulotoxinu a počet vpichů v jednotlivých lokalizacích uváděných v jednotkách preparátu Botox [®]	36

SEZNAM PŘÍLOH

P I Preparáty botulotoxinu typu A

PŘÍLOHA P I: PREPARÁTY BOTULOTOXINU TYPU A

Botox[®] Cosmetic

Přípravek Botox[®] Cosmetic obsahuje čištěný botulotoxin typu A získaný z kvašených kultur *Clostridium botulinum* pěstovaných v médiu obsahujícím hydrolyzát kaseinu, glukózu a kvasnicový extrakt. Tyto kultury jsou podrobeny autolýze, následně uvolňují toxický komplex botulotoxinu typu A s hemaglutininem o molekulární hmotnosti 900 kDa. Komplex je rozpuštěn ve sterilním fyziologickém roztoku obsahující lidský albumin, poté je sterilně filtrován a vakuově sušen. Každá lahvička obsahuje 100 UI (nebo 50 UI) komplexu botulotoxinu typu A, 0,5 mg lidského albuminu a 0,9 mg NaCl ve sterilní, vakuově sušené formě bez konzervantu.

Botox[®] je dodáván ve formě bílého prášku ve skleněných lahvičkách z bezbarvého skla uzavřené pertlem a PE flip-off uzávěrem fialové barvy s transparentním povrchem a popisem Allergan 100. Na štítku lahvičky musí být vždy holografický znak výrobce, jako důkaz o bezpečnosti a pravosti produktu. Pokud není holografický znak přítomen, uživatel tohoto přípravku by se měl obrátit na informační oddělení firmy Allergan. Lahvička musí být pod vakuem, které svědčí o sterilitě produktu, pokud tomu tak není, neměl by uživatel tento produkt použít a měl by kontaktovat informační oddělení firmy Allergan.

Více informací dostupných zde: <http://www.allergan.com/index.htm>

<http://www.botoxcosmetic.com/home.aspx>

Dysport[®]

Dysport[®] obsahuje čištěný botulotoxin typu A získaný z kvašených kultur *Clostridium botulinum* jako komplex botulotoxinu typu A s hemaglutininem a dalšími netoxickými proteiny. Jedna lahvička obsahuje 500 UI (nebo 300 UI) lyofilizovaného botulotoxinu typu A, 0,125 mg lidského albuminu a 2,5 mg laktózy. Pro srovnání, Botox[®] obsahuje 20x vyšší množství albuminu (500 µg/100 UI), než Dysport[®] (25 µg/100 UI).

Dysport[®] je dodáván ve formě bílého prášku ve skleněné lahvičce z bezbarvého skla s plastovým uzávěrem a hliníkovým pertlem. Lahvička s práškem musí být uchována pod vakuem. Stejně jako Botox[®] je i Dysport[®] opatřen holografickým znakem na štítku lahvičky, pokud tento znak není zřetelný nebo chybí, neměl by uživatel výrobek použít a měl by se obrátit na kontaktní místo výrobce.

Více informací dostupných zde: <http://www.ipsen.ltd.uk/>

<http://www.dysport.com/>