

# Botulotoxin a kosmetika

Kristýna Kelnerová

---

Bakalářská práce  
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky  
akademický rok: 2015/2016

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kristýna Kelnerová**  
Osobní číslo: **T13032**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Botulotoxin a kosmetika**

Zásady pro vypracování:

1. Chemická charakteristika botulotoxinu (BTX).
2. Toxikologický profil BTX (toxikokinetika, toxikodynamika).
3. Aplikace BTX v kosmetice.



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. **Deshpande, S.S. Handbook of Food Toxicology, New York 2002. ISBN 08-247-0760-5**
2. **Baumann, L.: Cosmetic Dermatology: Principles and Practice, 2nd, New York 2009. ISBN 978-0-07-149062-7**

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

**20. ledna 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**18. května 2016**

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



Ing. Martina Černeková, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: KELNEROVÁ KRISTÝNA

Obor: TUTKO

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/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<sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/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 diplomovou/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<sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3)</sup> 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<sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/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 diplomové/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 diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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 11.5.2016

  
.....

<sup>1)</sup> 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 nevydávalečně 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.*

<sup>2)</sup> *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 nezasahuje 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).*

<sup>3)</sup> *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). Odpirá-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 užít 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 přihlíádne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## **ABSTRAKT**

Odstraňování průvodních jevů, spojených s chronologickým stárnutím, zejména obličejových vrásek, je cílem zájmu kosmetologie a estetické medicíny. V poslední době se často používá botulotoxin, díky svým myorelaxačním účinkům na mimické svaly, což vede k vyhlazení povrchu kůže, tzv. faceliftingu. Tato bakalářská práce je zaměřena na využití botulotoxinu v kosmetické a dermatologické praxi. Je pojednáno o produkci tohoto neurotoxinu, jeho chemické charakteristice a mechanismu toxického působení. Druhá část je věnována histologii kůže a samotné aplikaci botulotoxinu při redukci vrásek a při snížení fokální hyperhidrózy.

Klíčová slova: Botulotoxin, kosmetika, vrásky, rejuvenace, hyperhidróza

## **ABSTRACT**

The removal of the accompanying phenomena, associated with chronological aging, especially facial wrinkles, is an object of interest of cosmetology and aesthetic medicine. Recently, a botulinum toxin has been used, due to its myo-relaxing effects on the mimic muscles, which leads to a smoothing of the surface of the skin, producing so called a facelift. This bachelor thesis is focused on the application of botulinum toxin in cosmetic and dermatological practice. The production of this neurotoxin, its chemical characteristic and mechanism of toxic action are also discussed. The second part of thesis is devoted to the histology of the skin and to the application of the botulinum toxin during the reduction of wrinkles and a focal hyperhidrosis.

Keywords: Botulinum toxin, cosmetic, wrinkles, rejuvenation, hyperhidrosis

Mé poděkování za ochotu, pomoc a rady patří především mému vedoucímu bakalářské práce, kterým byl pan doc. Ing. Rahula Janiš, CSc. Také bych chtěla poděkovat paní Soně Malinkové za poskytnutí materiálů a odborné literatury.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mé rodině, příteli a slečně Ivaně Malinkové za jejich podporu.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>1 CHARAKTERISTIKA BOTULOTOXINU</b> .....	<b>11</b>
1.1 BAKTERIE <i>CLOSTRIDIUM BOTULINUM</i> .....	11
1.2 BOTULISMUS .....	12
1.2.1 Historický přehled .....	12
1.2.2 Typy botulismu .....	13
1.2.2.1 Kojenecký botulismus (Infant botulism) .....	13
1.2.2.2 Alimentární intoxikace (Foodborne botulism) .....	13
1.2.2.3 Otrava vycházející z infikované rány (Wound botulism).....	14
1.3 CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA BOTULOTOXINU .....	14
<b>2 MECHANISMUS ÚČINKU BOTULOTOXINU – TOXIKODYNAMIKA</b> .....	<b>16</b>
2.1 NERVOSVALOVÝ PŘENOS .....	16
2.1.1 Nervová buňka a synapse.....	16
2.1.2 Nervosvalová ploténka.....	16
2.1.3 Mechanismus přenosu vzruchu .....	17
2.2 MECHANISMUS TOXICKÉHO PŮSOBENÍ BOTULOTOXINU .....	17
<b>3 CHARAKTERISTIKA KŮŽE</b> .....	<b>19</b>
3.1 STAVBA KŮŽE.....	19
3.2 STÁRNUTÍ KŮŽE.....	20
3.2.1 Intrinšické stárnutí.....	20
3.2.2 Extrinšické stárnutí.....	21
3.2.3 Změny v epidermis a dermis .....	21
3.3 VRÁSKY .....	22
<b>4 BOTULOTOXIN A KOSMETIKA</b> .....	<b>24</b>
4.1 KOREKCE VRÁSEK.....	24
4.1.1 Preparáty BTX-A .....	25
4.1.2 Ředění .....	25
4.1.3 Indikace .....	26
4.1.3.1 Glabellární oblast .....	28
4.1.3.2 Frontální oblast .....	28
4.1.3.3 Periorbitální oblast.....	29
4.1.3.4 Oblast nosu .....	32
4.1.3.5 Periorální oblast .....	33
4.1.3.6 Oblast brady a krku.....	35
4.1.4 Kontraindikace a komplikace.....	35
4.2 HYPERHIDRÓZA.....	36
4.2.1 Potní žlázy .....	36
4.2.2 Primární a sekundární hyperhidróza .....	37
4.2.2.1 Metody měření fokální hyperhidrózy .....	37
4.2.3 Léčba PFH.....	38
4.2.3.1 Terapie pomocí BTX-A .....	39
4.2.3.2 Kontraindikace a komplikace .....	41
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>42</b>



<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>43</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>48</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>50</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>51</b>

## ÚVOD

Botulotoxin, jako jeden z nejvíce jedovatých biologických látek, s letální dávkou 1,3–2,1 ng/kg nitrožilně, je neurotoxin produkovaný bakterií *Clostridium botulinum*. Různé kmeny této bakterie vytváří imunologicky odlišitelné typy toxinů (A – G). Nejvíce prozkoumaným a zároveň nejtoxičtějším je botulotoxin typu A [1, 2].

*Clostridium botulinum* způsobuje u lidí i zvířat onemocnění zvané botulismus. Infekce obvykle nastává požitím toxinu, který se nachází v infikované potravě. Neurotoxin působí na periferní nervy a tím vyvolává neuromuskulární šok. V České republice dochází ke třem až čtyřem prokázaným případům ročně [3, 4].

Je paradoxní, že ač je botulotoxin extrémně toxický, má i terapeutické účinky. Aplikace botulotoxinu je výrazným pokrokem v léčbě řady neurologických onemocnění. V současné době je botulotoxin využíván k léčbě různých dystonických syndromů, spasticity, chorob zažívacího traktu, očních chorob či migrény [5].

Již řadu let je botulotoxin také součástí omlazovacích programů. V dermatologii je využíván ke kosmetické redukci vrásek, tzv. facelifting a k dočasnému snížení fokální hyperhidrózy [2, 6]. Účelem této práce je literární rešerše v oblasti využití botulotoxinu v kosmetické a dermatologické praxi.

# 1 CHARAKTERISTIKA BOTULOTOXINU

## 1.1 Bakterie *Clostridium botulinum*

*Clostridium botulinum* je anaerobní grampozitivní tyčinkovitá bakterie, která se běžně vyskytuje v půdě. Tyčinky *C. botulinum* jsou rovné, pohyblivé a dosahují délky kolem 10 a více mikrometrů. Na krevním agaru vytváří kruhové bělavé necharakteristické kolonie obklopené zónou úplné hemolýzy [4, 7].

Za nepříznivých životních podmínek vytváří *C. botulinum* endospory, ve kterých, jako v klidovém stádiu, přetrvává do té doby, než se vytvoří vhodné podmínky pro jeho růst. Tyto endospory jsou velmi odolné proti vysoké teplotě a snesou var podobu čtyř až pěti hodin. Z toho důvodu mohou přežít nedostatečný sterilizační proces a poté v anaerobním prostředí vyklíčit, množit se a uvolňovat toxin [7, 8].

Různé kmeny této bakterie jsou rozděleny do čtyř skupin, podle jejich proteolytické aktivity a dalších vlastností jako je odolnost k teplu a podle typu produkovaného toxinu. Tyto čtyři biologicky odlišitelné skupiny produkují neurotoxin stejných fyziologických vlastností, ale různých antigenních typů A – G. Název antigenního typu toxinu byl přenesen i na klostridium, jež jej produkuje [4, 9].

Tabulka 1 Charakteristika skupin *Clostridium botulinum* [4, 9]

Vlastnosti	Skupina I.	Skupina II.	Skupina III.	Skupina IV.
Typy toxinu	A, B, F	B, E, F	C, D	G
Proteolýza	+	-	+/-	+
Sacharolýza	-	+	-	-
Hostitel nemoci	člověk	člověk	zvíře	neznámé
Minimální růstová teplota [°C]	10	3,3	15	neznámé
Optimální růstová teplota [°C]	35–40	18–25	40	37

Jednotlivé typy botulotoxinu (BTX) A – G jsou označovány podle chronologického pořadí jejich objevu. Označení pro BTX typu A a B bylo zavedeno v roce 1919 po vypuknutí lidského botulismu ve Spojených státech [9, 18].

BTX typu C se poprvé objevil při nálezů nakažených kuřat ve Spojených státech a skotu v Austrálii. Tento typ je rozdělován na  $C_1$  a  $C_2$  (popř.  $C_{\alpha}, C_{\beta}$ ). U nemocného skotu byl později izolován také BTX typu D [9, 18].

V roce 1934 se ve státu New York a na Ukrajině objevily případy nákazy z kontaminovaných ryb následkem BTX typu E [18].

BTX typu F je znám od roku 1958, kdy bylo vyšetřováno rozšíření botulismu v Německu po požití játrové paštiky [18].

Posledním objeveným je typ G, který byl nalezen v nízké koncentraci při průzkumu půdy v Argentině [18, 19].

## 1.2 Botulismus

Botulismus, onemocnění způsobené expozicí BTX, vzniká nejčastěji alimentární nákazou při požití nedokonale tepelně upravených masných výrobků. BTX se dostává do střeva, kde vytváří komplex s hemaglutininem a dalšími netoxickými proteiny. Ty jej chrání před působením trávicích enzymů a tím usnadňují absorpci střevní stěnou [10].

Botulismus se obvykle rozvíjí po 12–36 hodinách po intoxikaci. Prvními projevy jsou bolesti hlavy, končetin, sucho v ústech a zvracení [10]. Poté dochází k chabé obrně svalů inervovaných mozkovými nervy, dvojitému vidění, ovlivnění polykání, slinění a k postupným obrnám kosterních svalů. Proces je zakončen poruchami dýchání a zástavou srdce [4].

### 1.2.1 Historický přehled

K prvnímu písemně doloženému šíření nákazy zvané botulismus došlo v roce 1793 v Německu. V té době se o tento tzv. klobásový jed začal zajímat lékař, spisovatel a básník, doktor Justin Christian Kerner, který je považován za zakladatele výzkumu botulotoxinu. Také on poprvé použil pojem botulismus (z latinského

*botulus* – klobása) poté, co v roce 1817 v Tübingenských přírodovědeckých a lékařských listech popsal smrt sedláka, která nastala po požití vyuzené, ale nepřevařené klobásy. Podle Kernerera byla příčina úmrtí způsobena přemírou mastných kyselin. To bylo vyvráceno v roce 1897, kdy Pierre Marie van Ermengen, žák Roberta Kocha, izoloval *C. botulinum* jako bakteriálního původce botulismu. V roce 1920 doktor Herman Sommer izoloval botulotoxin typu A a v roce 1949 Burgen a jeho kolegové v Londýně zjistili a objasnili, že botulotoxin způsobuje blokádu nervosvalové ploténky. Do klinické praxe se BTX dostal zásluhou Edwarda J. Schantze a Alana B. Scotta po roce 1970 [10, 11, 12].

## 1.2.2 Typy botulismu

### 1.2.2.1 Kojenecký botulismus (*Infant botulism*)

Tento typ botulismu byl poprvé zaznamenán v roce 1975. Nejčastěji postihuje děti okolo šestého měsíce života. Po požití spor bakterie *Clostridium botulinum* dochází k jejich růstu a následné kolonizaci tlustého střeva novorozence, kde se začne uvolňovat toxin [9, 13].

Prvním příznakem kojeneckého botulismu bývá zácpa, která je často přehlížena. Dítě začne být otupělé, spí více než obvykle, dochází k problémům s polykáním. V některých případech může dojít až k zástavě dechu. Kojenecký botulismus je nejčastěji způsoben kontaminovaným medem [9, 14].

### 1.2.2.2 Alimentární intoxikace (*Foodborne botulism*)

Nejčastějším typem botulismu je alimentární intoxikace botulotoxinem již vytvořeným v potravině. Nejčastěji se jedná o domácí masové, rybí i zeleninové konzervy. Inkubační doba bývá 18–36 hodin. Ze zažívacího traktu se dostává do krve a centrálního nervového systému pouze malé, ale velice efektivní procento toxinu [4, 14].

K prvním symptomům se řadí dvojité vidění, pokles víček, nevolnost, zvracení a jak již bylo zmíněno, je tento proces zakončen poruchou dýchání a zástavou srdce [4, 15].

### 1.2.2.3 Otrava vycházející z infikované rány (*Wound botulism*)

Je způsobena kontaminací rány spory *C. botulinum*, které nadále klíčí a produkují toxin. Do devadesátých let se tato forma botulismu vyskytovala velice zřídka. Od té doby ale nastal dramatický nárůst nakažených hlavně mezi drogově závislými [16].

Příznaky nákazy jsou podobné alimentární intoxikaci, ale mohou trvat až dva týdny, než se začnou projevovat [17].

## 1.3 Chemická charakteristika botulotoxinu

Všechny botulotoxiny A – G (anglicky botulinum neurotoxins BoTN) jsou produkovány jako samostatné polypeptidové řetězce s molekulovou hmotností okolo 150 kDa, které jsou samy o sobě netoxické [1].

Klostridiální toxiny jsou řazeny mezi tzv. AB toxiny, neboť obsahují dva nestejně velké proteinové řetězce. Těžký řetězec označovaný H-chain o molekulové hmotnosti 100 000 Da a lehký řetězec, tzv. L-chain, s molekulovou hmotností 50 000 Da. K jejich syntéze dochází uvnitř *C. botulinum* odděleně, ke spojení dochází až následně účinkem klostridiové protézy. Řetězce jsou spojeny pomocí disulfidického můstku, čímž se stává toxin aktivním [10, 20, 23]. Schematické znázornění struktury BTX je na obrázku 1.

V některé literatuře se můžeme setkat i s termínem farmakokinetická a farmakodynamická jednotka. Farmakokinetickou jednotkou se rozumí těžký řetězec, který je zodpovědný za navigaci a taxi. Označení farmakodynamická jednotka se vztahuje na lehký řetězec, který umožňuje penetraci přes membrány k cílovým strukturám [10].

Na základě porovnání sekvencí aminokyselin lze BTX rozdělit na tři prostorově oddělené a funkčně odlišitelné části toxinu – domény [24].

Translokační doména, která je tvořena aminovou částí na těžkém řetězci, umožňuje vstup toxinu přes buněčnou membránu do cytosolu tím, že deformuje jeho strukturu [21, 24].

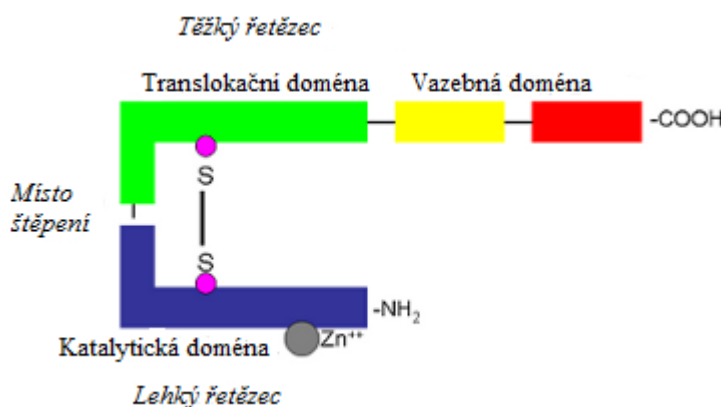


Další doménou nacházející se na těžkém řetězci je doména vazebná. Tato karboxylová oblast obsahuje specifické terminální C-řetězce, zodpovídající za specifickou vazbu toxinu k receptoru buněčné stěny presynaptického vlákna [21, 24].

Zatímco aminová oblast je u klostridiálních neurotoxinů vysoce homologní, karboxylová oblast představuje větší variabilitu [21].

Na lehkém řetězci je navázaný atom zinku. Tato část botulotoxinu je tzv. katalytickou doménou, jejíž význam není zcela jasný. Předpokládá se, že hraje roli v přilnavosti toxinu k buněčné stěně, což následně vyvolá aktivaci translokační domény [10, 21].

Botulotoxiny jsou ničeny zejména zářením, teplem, světlem a vysoce alkalickým prostředím. I přesto, že se jedná o polypeptidy, je rezistence k RTG záření a k teplu velmi vysoká – ničí je až 10 minutový var. Produkce toxinu se zastavuje při pH nižším než 5,5 [4].



Obrázek 1 Schematické znázornění BoTN [22]

Jak již bylo zmíněno, BTX je považován za jednu z nejtoxičtějších látek na světě. Letální dávka se měří v mezinárodních jednotkách (UI), přičemž jedna jednotka je definována jako smrtelná dávka toxinu, která po intraperitoneálním podání (do břišní dutiny) vede po třech dnech ke smrti 50 % Swiss-Websterových myší s hmotností 18–20 g. Letální dávka LD<sub>50</sub> pro člověka vážícího 70 kg je odhadnuta na 2500 až 3000 UI [35].

## 2 MECHANISMUS ÚČINKU BOTULOTOXINU – TOXIKODYNAMIKA

### 2.1 Nervosvalový přenos

#### 2.1.1 Nervová buňka a synapse

Nervová buňka (neuron) se skládá z těla a výběžků, kterými jsou axony a dendrity. Axon (neurit) je zpravidla dlouhý a vede vzruchy od těla buňky a dendrity jsou krátké výběžky vedoucí podráždění směrem k tělu neuronu. Povrch axonu je obvykle pokrytý myelinovou pochvou a Schwannovou pochvou. Motorické neurony, se kterými se setkáváme u nervosvalové ploténky, slouží k přenosu informace z mozku nebo míchy k příčně pruhovaným svalům [25, 26].

Neurony jsou vzájemně spojeny tzv. synapsi (zápoji). Synapse se skládá ze tří částí. Z presynaptické membrány, což je rozšířená termální část axonu, která obsahuje vezikuly s chemickým neurotransmiterem a větší množství kanálů pro vápník ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Dále se skládá z postsynaptické membrány, kde se nacházejí především speciální receptory, které mohou reagovat s neurotransmitery a ze synaptické štěrbin, která se nachází mezi presynaptickou a postsynaptickou membránou [25].

#### 2.1.2 Nervosvalová ploténka

Nervosvalová ploténka je specializovaná synapse, na níž se uskutečňuje přenos informace z nervu na sval. Každý motorický axon se v jeho distální (koncové) části větví na různý počet tenkých vláken – tzv. termální větvení. Tato vlákna jsou nemyelinizována a jsou pokryta jen Schwannovými buňkami. Každá z těchto větví je v kontaktu s jedním svalovým vláknem [26].

Pro přenos vzruchu na nervosvalové ploténce je nutný tzv. chemický neurotransmitter, kterým je acetylcholin (ACh). ACh je syntetizován v termálním neuronu z acetyl-koenzymu A a cholinu a je uložen v synaptických vezikulách, které vznikají invaginací (vchlípením) axonální membrány [26].

### 2.1.3 Mechanismus přenosu vzruchu

Nervosvalový přenos se skládá z šesti etap: syntézy acetylcholinu, jeho depozice (uložení), uvolnění, vazby, degradace a recyklace [10].

Cholin je transportován z mimobuněčné tekutiny do buněčného cytosolu nervového zakončení, kde pomocí acetyl- koenzymu A je enzymaticky přeměněn na acetylcholin. Následně se přesune a uloží do synaptických vezikul [10].

Poté co k nervosvalové ploténce dorazí elektrický impulz, dochází k prudkému otevření vápníkových kanálů a k přesunu vápenatých iontů do buňky. Zvýšení koncentrace vápníku uvnitř buňky spouští kaskádu reakcí, které způsobuje přesun vezikul s acetylcholinem k presynaptické membráně [10, 26].

Splynutí membrány vezikuly a presynaptické membrány umožňuje komplex proteinů, označovaný jako tzv. SNAREs (soluble NSF attachment protein receptors) proteiny. Tento komplex je funkčně rozdělený na dvě skupiny: v-SNAREs (primárně se nacházející na membráně vezikul) a t-SNAREs (primárně se nacházející na presynaptické membráně). Mezi t-SNAREs proteiny se řadí syntaxin 1A a SNAP-25 (synaptosomal associated protein o hmotnosti 25 kDa). VAMP2 (vesicle associated membrane protein), dříve označovaný jako synaptobrevin, je zástupcem v-SNAREs proteinů [10, 47].

Po splynutí vezikul s presynaptickou membránou je acetylcholin uvolněn do synaptické štěrbině a dále prostupuje k postsynaptické membráně, kde reaguje s přítomnými receptory svalových buněk. Dochází k aktivaci systému „druhých posílů“, který je zodpovědný za proces svalové kontrakce. Poté je acetylcholin velmi rychle uvolňován z vazby na receptory zpět do synaptické štěrbině, kde je enzymem acetylcholinesterázou štěpen na acetát a cholin [10, 26].

## 2.2 Mechanismus toxického působení botulotoxinu

Botulotoxiny A – G působí na periferní nervový systém a způsobují inhibici uvolňování acetylcholinu z presynaptického nervového zakončení. Botulotoxin postihuje všechny cholinergní synapse (mající acetylcholin jako neurotransmiter): nervosvalová spojení, postganglionární parasymptická zakončení a autonomní ganglia [5, 10].

Jednotlivé BTX serotypy se liší afinitou k cílovým strukturám na presynaptické membráně [5]:

Tabulka 2 Vztah serotypů BTX ke strukturám presynaptické membrány [5]

Serotyp	Vazebné místo
A, E	SNAP-25
B, D, F, G	VAMP
C	SNAP-25, syntaxin

Mechanismus účinku botulotoxinu lze rozdělit do tří fází: vazba na receptor (na presynaptickou část nervosvalové ploténky), internalizace (průnik toxinu do cytosolu nervové buňky) a inhibice uvolňování acetylcholinu [9, 10, 20].

Těžký řetězec botulotoxinu se selektivně a ireverzibilně naváže na receptory presynaptické membrány. Z presynaptické membrány putuje neurotoxin pomocí endocytózy do cytosolu nervové buňky. Poté dochází k transportu do lysozomů, kde dochází vlivem nízkého pH ke strukturální změně BTX. Zde se změní prostorové uspořádání molekuly a s tím dojde i k „obnažení“ aktivních vazebných struktur na lehkém řetězci. V další fázi je aktivovaný neurotoxin pomocí exocytózy uvolněn do cytosolu. Pomocí neuronálních enzymů dojde k redukci disulfidické vazby mezi L- a H- řetězcem. Tento proces je důležitý, neboť pouze izolovaný lehký řetězec je schopen enzymaticky zabránit vazbě v-SNARE a t-SNAREs proteinů a tím zabránit splynutí membrány vezikul a presynaptické membrány. L-řetězec obsahuje ve své struktuře specifickou zinkovou endopeptidázu, pomocí které inaktivuje proteiny podle afinity jednotlivých serotypů ke strukturám presynaptické membrány (viz. Tabulka 2) [1, 9, 10].

Důsledkem je znemožnění exocytózy acetylcholinu do synaptické štěrbině a blokáce přenosu na nervosvalové ploténce, což má za výsledek chabou svalovou paralýzu [27].

### 3 CHARAKTERISTIKA KŮŽE

#### 3.1 Stavba kůže

Kůže (*cutis*) je jeden z nejdůležitějších a zcela nezbytných orgánů lidského těla. Skládá se z pokožky (*epidermis*), škáry (*dermis*) a podkožního vaziva (*tela subcutanea, hypodermis*). Každá z těchto vrstev má svoji specifickou funkci [25, 29, 33].

*Epidermis* je nejsvrchnější vrstva kůže. Z hlediska kosmetiky je nejdůležitější, protože právě tato vrstva udává kůži její strukturu, vlhkost a podílí se také na barvě pleti. Je složena z pěti vrstev. Základní vrstva (*stratum basale*) je tvořena zárodečnými buňkami, které svým dělením doplňují buňky výše položených vrstev. Ostnitá vrstva (*stratum spinosum*) tvoří největší část *epidermis* a je vyplněná tkáňovým mokem. Zrnitá vrstva (*stratum granulosum*) obsahuje zrníčka keratohyalinu, což je projevem určitého stupně rohovatění. Světlá vrstva (*stratum lucidum*) je nápadněji vyvinuta jen na dlaních a chodidlech. Poslední vrstvou je vrstva rohová (*stratum corneum*), která tvoří povrch pokožky. Buňky jsou vyplněny keratinem, který je odolný proti chemickým, biologickým a fyzikálním vlivům [29, 33].

Pokožka má čtyři typy buněk [26]:

1. Keratinocyty

Jsou uloženy v nejhlubší vrstvě *epidermis*, průběžně se dělí, posouvají se směrem k povrchu, postupně se oplošťují a zvyšují obsah keratinu. V povrchové vrstvě odumírají a poté se odlupují ve formě šupin.

2. Melanocyty

Tvoří melanin, který pohlcuje škodlivé UV záření a zároveň přispívá ke zbarvení kůže.

3. Imunitní buňky – Langerhansovy

Pohlcují a zneškodňují mikroorganismy, které vstupují do kůže.

4. Merkelovy buňky

Nacházejí se v nejhlubší vrstvě pokožky, kde jsou v kontaktu s dostředivými neurony ve škáře. Slouží k vnímání dotykového cití [26].

Škára je střední a nejsilnější část kůže a je tvořena vrstvou papilární (povrchová) a retikulární (hlubší). V papilární vrstvě jsou uložena především jemná vazivová

vlákna – kolagenní, elastinová a retikulární. Vrstva retikulární obsahuje tukové a vazivové buňky [26, 30].

Podkožní vazivo obsahuje řídké pojivo, nervová vlákna, tepny, žíly a mízní cévy. Chrání hlouběji uložené orgány proti mechanickému poškození a teplotním rozdílům [30].

## 3.2 Stárnutí kůže

Stárnutí kůže se definuje jako evoluční děj, při kterém dochází k morfologickým a funkčním změnám probíhající v epidermis, dermis a hypodermis. Je to proces vyskytující se u všech orgánů, ale právě na kůži, která tvoří povrch těla, je nejvíce viditelný. Touha lidí udržet si nebo obnovit mladistvý vzhled se dostala v této době do popředí zájmu. Stárnutí lze rozdělit do dvou kategorií: intrinsické a extrinsické [30, 31].

### 3.2.1 Intrinsické stárnutí

Intrinsické, chronologické stárnutí (vnitřní) je pomalý proces, způsobující strukturní změny tkání. Je ovlivněno genetickou predispozicí člověka, vlivem metabolických onemocnění a hormonálním statutem. Hlavní příčinou vnitřního stárnutí je zkracování telomerů a také zde hrají důležitou roli hormony [30, 31].

Telomery jsou specializované struktury, které se nacházejí na konci eukaryotických chromozomů a jsou nedílnou součástí životnosti buněk. Jsou složeny ze stovek krátkých a opakujících se komplementárních párů bází TTAGGG. Během života se délka telomerů zkracuje, což je dáno opakovaným dělením buněk. Když je délka telomeru příliš krátká dochází k tzv. apoptóze (programovaná buněčná smrt). Z tohoto důvodu hrají telomery roli při procesu stárnutí. U některých buněk se vyskytuje enzym telomeráza, který dokáže replikovat telomerické páry bází a tím zabránit buněčné smrti. Tento proces se stal měřítkem věku a v současné době také základem jedné z nejvíce upřednostňované teorie stárnutí [29, 31].

Hormonální stárnutí kůže je způsobeno hlavně nedostatkem androgenů a estrogenů. Jejich absence v epidermis vede ke změnám na kůži i na sliznicích a také ke zkrácení životnosti keratinocytů. V dermis se snižuje množství kolagenu a kolagenní vlákna se ztenčují. Během pěti let od nástupu menopauzy, která u žen začíná mezi 45. – 55. rokem, dochází ke 30% úbytku kolagenu. Nedostatek estrogenů má také za následek



úbytek množství elastinových vláken, což vede ke snížení elasticity dermis, kůže ochabuje a tvoří se vrásky [30].

### 3.2.2 Extrinsické stárnutí

Extrinsické stárnutí (vnější) je dáno působením vnějších vlivů. Mezi faktory ovlivňující vnější stárnutí řadíme zejména životní styl a stravu, expozici UV záření (photoaging), kouření, smog a počasí [31, 32].

Je dokázáno, že expozice UV záření hraje při procesu stárnutí tu největší roli. UV záření lze podle vlnové délky rozdělit na 3 oblasti: UVC (10–290 nm), které je kompletně odraženo atmosférou, UVB (290–320 nm) a UVA (320–400 nm). UVB způsobuje změny na epidermální úrovni, kde poškozují DNA keratinocytů a melanocytů. Záření UVA zasahuje jak epidermis, tak i dermis a jeho účinkem dochází k produkci reaktivního kyslíku v rámci oxidativního buněčného metabolismu, který poškozují buňky, membrány, enzymy a DNA [32].

Kouření je považováno za důležitého činitele stárnutí pokožky a tvorby vrásek. Působí na integritu epidermis, kde také snižuje přítomnost hygroskopických látek (udržujících vlhkost) a má vliv i na dermální cévy [32].

### 3.2.3 Změny v epidermis a dermis

#### Epidermis

Ačkoli změny související s věkem jsou více výrazné v dermis než v epidermis, tak i zde dochází k určitým přeměnám. Stárnutí kůže snižuje životnost epidermálních keratinocytů a tím také snižuje epidermální obnovu až o 50 %. Také dochází k úbytku Langerhansových buněk a melanocytů, což se projevuje bledostí kůže [29, 32].

Se stárnutím pokožky také souvisí zploštění tzv. dermoepidermální junkce (DEJ), což je spojovací plocha mezi epidermis a dermis. Podle jedné studie se tato oblast sníží z 2,64 mm<sup>2</sup> u lidí ve věku 21–40 let na 1,90 mm<sup>2</sup> ve věku 61–80 let. Tato ztráta povrchu DEJ přispívá ke zvýšené křehkosti kůže a ke snížení přenosu živin mezi dermální a epidermální vrstvou [29, 31].

## Dermis

V průběhu života se ztrácí přibližně 20 % tloušťky dermis. Předmětem výzkumu stárnoucí kůže se staly 3 hlavní složky dermis: kolagen, elastin a glykosaminoglykany (GAG) [31].

Kolagen je komplex 18 proteinů, který je zodpovědný za pevnost a podporu pokožky a je nejhojnějším proteinem vyskytujícím se ve škáře. Rozlišujeme několik typů kolagenu. Typ I tvoří 80 % a typ III přibližně 15 % celkového kolagenu v mladé kůži. Během procesu stárnutí je kolagen nahrazován GAG a mění se poměr mezi kolagenem typu I a typu III (hladina kolagenu I se snižuje až o 59 %) [29, 31].

Vlivem UV záření dochází k zahušťování, stáčení a následné degradaci elastinových vláken a k nahromadění amorfního elastinového materiálu tzv. elastóze. Degradaci také způsobují enzymy zvané matrixmetaloproteinázy. U starších lidí bylo zjištěno, že elastin obsahuje navíc vysoké množství aminokyselin, cukrů a lipidů [29].

GAG spolu s elastinem a kolagenem jsou zodpovědné za vnější vzhled pokožky. Tyto polysacharidové řetězce jsou velice důležité, protože na sebe mohou navázat velké množství vody. Mezi GAG řadíme kyselinu hyaluronovu, díky které je pleť hydratovaná a měkká. Slabší GAG hrají důležitou roli při úbytku kolagenu, který postupně nahrazují a pleť se tímto ztenčuje a přestává být pružná [31].

### **3.3 Vrásky**

Jak již bylo zmíněno, v důsledku stárnutí dochází k určitým změnám v kůži, jejichž následkem vznikají vrásky. Dále se na vzniku vrásek podílejí změny kostí a chrupavek v obličejí, ztráta podkožního tuku či působení gravitace. Vrásky se dají definovat jako různě hluboké linie narušující kontinuitu hladkého vzhledu kůže [32, 34].

Klasifikace vrásek dle vzniku:

1. Dynamické (mimické) vrásky

Podkladem pro vznik těchto vrásek je pohyb mimických svalů za současného tahu kůže obličejí. Vyskytují se především na čele, mezi obočím, v periorbitální (okolí očnice) a nosoretní oblasti.

2. Statické vrásky

Vznikají z důvodu ztráty elasticity, hydratace, hormonálním stárnutím a také stresem.

3. Habituální vrásky

Vznikají vlivem extrinsického stárnutí (expozice UV záření, kouření).

4. Ztrátové vrásky

Objevují se při úbytku hmoty tukové tkáně [32, 34].

Tvorba vrásek je přirozenou součástí stárnutí. Avšak v současnosti existují různé metody, které vedou k její rejuvenci. Jednou z nich je vyhlazování vrásek pomocí aplikace botulotoxinových injekcí. Na tuto problematiku jsem se zaměřila v následující kapitole.

## 4 BOTULOTOXIN A KOSMETIKA

### 4.1 Korekce vrásek

Využití botulotoxinu typu A (BTX-A) v boji proti dynamickým vráskám se za poslední desetiletí stalo jednou z nejvíce vyhledávaných metod. Aplikace BTX-A byla poprvé schválena v roce 2002 úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (anglicky Food and Drug Administration, FDA) jako dočasná léčba glabelárních vrásek (oblast mezi obočím). I přesto, že již existují novější způsoby rejuvenace pleti, jako jsou například výplňové materiály, jedná se stále o jednu z nejobvyklejších metod v Evropě i v USA [29, 35].

Samotná aplikace BTX-A se provádí inzulinovou jehlou nitrosvalově, vsedě nebo polosedě do místa, kde chceme přerušit svalovou aktivitu. Pro snížení bolesti lze využít i lokální anestezii přiložením ledu v oblasti, kde se BTX-A bude vpichovat. Pokožka by měla být při aplikaci mírně napnutá, aby bylo možné rozpoznat povrchové cévy a tím snížit riziko vzniku ekchymózy (krvavá skvrna v kůži). Pokud by ke vzniku této skvrny došlo, musí lékař toto místo udržovat 5–10 minut pod tlakem, aby se zabránilo vzniku hematomu (modřiny) a možné migraci toxinu. Pacient by měl být obeznámen, že oblast, do které byl BTX-A aplikován by neměl po dobu 2–4 hodin masírovat, aby nedošlo k difúzi toxinu a s tím k ochabnutí sousedních svalů. Dále je doporučeno 4–6 hodin po aplikaci neuléhat na lůžko, nesklánět se, omezit fyzickou aktivitu a maximálně využívat mimiku. Po 2–3 dnech již lze zpozorovat zlepšení klinických projevů. Efekt trvá 2–3 měsíce, ale jsou známy i případy, kdy účinek přetrvával až 6 měsíců a déle [2, 6, 12, 35].

Korekce vrásek pomocí BTX-A je určena pro ženy i muže zejména ve věku od 40 do 60 let. Léčba pomocí botulotoxinových injekcí by měla být individuální, protože každý jedinec je jiný a to zejména ve svalovém chování. Pacienty lze rozdělit na základě svalového napětí do tří skupin: kinetičtí, hyperkinetičtí a hypertoničtí. U kinetických pacientů je doba trvání účinku BTX-A nejdelší ze všech skupin a jeho aplikace bývá nejjednodušší. Hyperkinetičtí pacienti trpí nadměrnou svalovou kontrakcí, a proto dochází na léčbu dvakrát až třikrát ročně v závislosti na trvání efektu. Tato skupina pacientů je nejpočetnější. Nejkratší doba působení BTX-A je u hypertonických jedinců, kteří léčbu potřebují nejvíce. Protože korekce vrásek pomocí BTX-A je

limitována, je dobré tyto pacienty informovat o dalších možnostech léčby jako jsou výplně nebo jiné chirurgické zákroky [35].

#### 4.1.1 Preparáty BTX-A

Mezi tři nejdostupnější produkty BTX-A schválené pro kosmetické indikace patří Botox®, také označovaný jako Botox® Cosmetic, Dysport® a Xeomin®. Tyto preparáty byly přejmenovány pomocí tzv. mezinárodních nechráněných názvů (anglicky International Nonproprietary Name, INN) na Onabotulotoxin A (Botox®), Abobotulotoxin A (Dysport®) a Incobotulotoxin A (Xeomin®) [35, 36].

Dysport® obsahuje 300 nebo 500 UI BTX-A, 125 µg lidského albuminu, 2,5 mg laktózy a stopová množství proteinu z kravského mléka. Botox® Cosmetic je dodáván v lahvičce obsahující 50 nebo 100 UI BTX-A, 0,5 mg lidského albuminu a 0,9 mg chloridu sodného [35].

Všechny BTX-A preparáty jsou získávány z živých kmenů bakterie *Clostridium botulinum* chovaných za anaerobních podmínek. Jsou dodávány ve sterilní lahvičce opatřené pryžovou zátkou s hliníkovým uzávěrem, která obsahuje BTX-A ve formě lyofilizovaného prášku bez konzervačních přísad. Ampule by měla být uchovávána při teplotě 2–8 °C, takto ji lze skladovat až po dobu 24 měsíců. Před použitím je třeba prášek naředit fyziologickým roztokem (0,9% chlorid sodný) a ihned použít nebo uložit do chladničky po dobu maximálně 24 hodin. Ačkoliv některé studie uvádějí, že účinnost již naředěného prášku je až šest týdnů, většina lékařů likviduje ampule po 1–7 dnech od naředění [35, 36].

#### 4.1.2 Ředění

Rozsah ředění, objem injekce a počet jednotek, které mají být pacientovi vpraveny, závisí v současné době na preferencích lékaře. Doporučené ředění preparátu Botox® Cosmetic se pohybuje v rozmezí od 1 do 4 ml fyziologického roztoku na 100 UI (0,5–2 ml na 50 UI). Maximální celková dávka na jednom sezení je od 300 do 400 UI a ne více jak 400 UI po dobu tří měsíců. Naředěním přípravku Dysport® (300 UI) 2,5 ml chloridu sodného, vznikne roztok, kde 10 UI odpovídá 0,08 ml roztoku [35, 37].

Je důležité zmínit, že mezi přípravkem Botox® (balení 100 UI) a Dysport® (balení 500 UI) jsou výrazné odlišnosti v balení a dávkování. Uvádí se, že 1 UI Botoxu®

odpovídá biologickou účinností 2–5 UI Dysportu®. Tento nepoměr je nejspíše dán rozdílným množstvím albuminu v těchto preparátech. Doporučené ředění je uvedeno v tabulce 3 [10, 35].

*Tabulka 3 Doporučené ředění pro preparáty Botox® Cosmetic a Dysport® [35]*

Preparát	Množství fyziologického roztoku [ml]	Výsledná koncentrace [UI/0,1ml]
Botox® Cosmetic (balení 100 UI)	2	5
	2,5	4
	4	2,5
Botox® Cosmetic (balení 50 UI)	1	5
	2	2,5
Dysport® (balení 300 UI)	1	30
	1,5	20
	2,5	12
	3	10

#### 4.1.3 Indikace

Mezi nejčastěji indikované oblasti ošetřované BTX-A patří glabelární vrásky, horizontální vrásky na čele a vrásky v periorbitální oblasti. Avšak v současnosti lze BTX-A aplikovat téměř na jakékoli vrásky vyskytující se na obličeji a také na krku [2, 39]. Na obrázku 2 jsou znázorněny oblasti, které jsou vhodné pro aplikaci BTX-A. O vybraných lokalizacích je pojednáno níže v textu. V souvislosti s jednotlivými indikacemi budou zmíněny také obličejové svaly, které jsou zobrazeny na obrázku 3.





- 1) horizontální vrásky
- 2) glabelární vrásky
- 3) vrásky kolem očí
- 4) vrásky na kořeni nosu
- 5) nasolabiální rýhy
- 6) periorální vrásky
- 7) marionetové vrásky
- 8) vrásky na bradě
- 9) vrásky na krku
- 10) vrásky v oblasti obočí
- 11) vrásky v oblasti dolních víček

Obrázek 2 Lokalizace vrásek [38]



- 1) sval čelní
- 2) svažovač obočí
- 3) sval štíhlý
- 4) kruhový sval oční
- 5) nosní sval
- 6) velký sval licní
- 7) kruhový sval ústní
- 8) stahovač ústního koutku
- 9) zdvíhač ústního koutku
- 10) plochý sval
- 11) mimický sval brady

Obrázek 3 Lokalizace obličejových svalů [38]

#### 4.1.3.1 Glabární oblast

Tato oblast se řadí mezi oblasti, které jsou pomocí botulotoxinu ošetřované nejčastěji. Glabární vrásky vznikají v důsledku mračení. Za jejich vznik zodpovídá sval štíhlý (*musculus procerus*) a svašťovač obočí (*musculus corrugator supercilii*). U přípravku Botox® Cosmetic se dávka pohybuje od 20 UI do 30 UI (Dysport® 50 UI) a je rozdělena do pěti míst (Obrázek 4). Počet aplikovaných jednotek BTX-A by měl být přizpůsoben množství svalové hmoty v této oblasti [12, 35].

Pro snadnější aplikaci je nejlepší, aby pacient byl zamračený, ale jsou k dispozici i příručky, ve kterých jsou znázorněny orientační místa vpichu. U většiny pacientů je první injekce (5–10 UI) vpravena do svalu štíhlého uprostřed pomyslného kříže mezi obočím a vnitřními koutky očí. Další čtyři injekce (2,5–5 UI) jsou aplikovány do svašťovače obočí alespoň 0,5–1 cm od okraje očníce. Je doporučováno místa vpichu stlačit prstem, což by mělo snížit bolest a zmenšit modřinu [12, 35, 37].

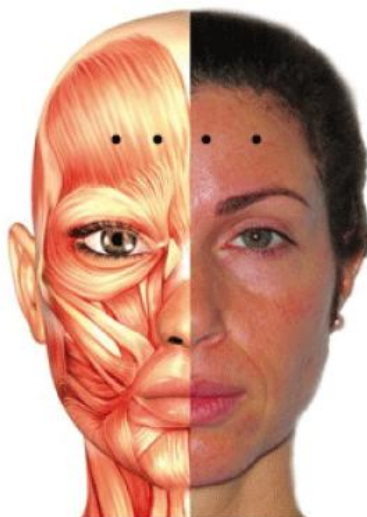


Obrázek 4 Glabární oblast [35]

#### 4.1.3.2 Frontální oblast

Horizontální vrásky na čele jsou způsobeny aktivitou svalu čelního (*musculus frontalis*) a jsou velmi zřetelné při jeho maximální kontrakci. Je důležité, aby místa aplikace byly minimálně 1–2 cm nad okrajem očníce, aby nedošlo k poklesu čela a obočí. V závislosti na hloubce a rozsahu vrásek se počet injekcí pohybuje v rozmezí od čtyř do deseti s dávkou 10–15 UI Botoxu® Cosmetic (Dysportu® 20–30 UI), která je rozdělena mezi všechny lokality [12, 35, 39].

Některé horizontální vrásky bývají záměrně pacientovi ponechány, aby se dosáhlo co nejpřirozenějšího vzhledu. Vrásky na čele a v glabelární oblasti jsou často ošetřovány společně, a proto je důležité snížit celkovou dávku, aby se zabránilo zmrazenému výrazu obličeje [35]. Frontální oblast je znázorněna na obrázku 5.



Obrázek 5 Frontální oblast [35]

#### 4.1.3.3 Periorbitální oblast

##### Vrásky u vnějšího koutku oka

Vějířkovité vrásky u vnějšího koutku oka, často označované jako „crow's feet“ (v překladu vrání noha), vznikají kontrakcí kruhového svalu očního (*musculus orbicularis oculi*). Za vznikem těchto vrásek stojí mnoho faktorů jako např. působení UV záření, kouření či vysušování pokožky působením větru [12, 35].

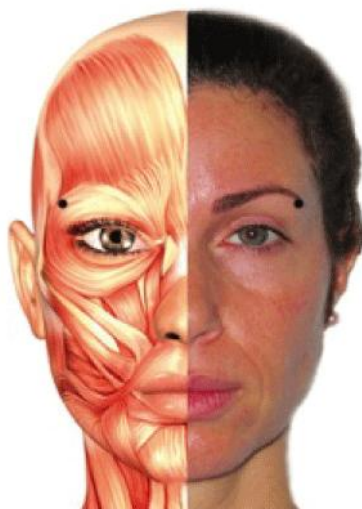
K ošetření se používá celková dávka 12 UI přípravku Botox® Cosmetic a 30 UI Dysportu®, která je rozdělena do míst označených na obrázku 6. Opět je důležité směřovat injekce 1–1,5 cm od okraje očnice, aby nedošlo k poklesu víček [35, 37].



*Obrázek 6 Periorbitální oblast [35]*

### Oblast obočí

Proces stárnutí způsobuje pokles čela, ale také obočí, což dodává člověku negativní a unavený vzhled. Zejména u žen středního věku vzniká tzv. ptóza víček (pokles), která zapříčiňuje různé asymetrie v obličeji. K pozvednutí obočí a čela lze využít dvě techniky. První z nich je vhodná pro mírné zvednutí koncových částí obočí. Injekce se umístí do horních postranních vláken kruhového svalu očního přibližně 0,5 cm od okraje očnice. Doporučené dávkování je 3–4 UI Botoxu® Cosmetic a 10–12 UI Dysportu®. Druhá technika je určena ke zvednutí obočí po celé délce se třemi až pěti vstříkovacími místy asi 0,5 cm od okraje očnice. Rozmezí dávek se pohybuje od 10–15 UI Botoxu® Cosmetic a 30–40 UI Dysportu®, které je rozděleno do tří míst [35]. Umístění vpichů je znázorněno na obrázku 7 a 8.



*Obrázek 7 Místa vpichu pro první techniku [35]*



*Obrázek 8 Místa vpichu pro druhou techniku [35]*

### Vrásky v oblasti dolních víček

Využití BTX-A v této oblasti je nutno předem dobře zvážit. Je důležité zhodnotit kvalitu kůže a přítomnost tzv. váček pod očima. V případě, že tyto váčky jsou přítomny, není vhodné u těchto pacientů aplikovat BTX-A, ale zvážit chirurgický zákrok [35, 37].

Injekce by měly být směřovány do oblasti kruhového svalu očního (tato oblast je znázorněna na obrázku 9), čímž by mělo dojít k rozšíření oka a tím k celkovému estetickému zlepšení této oblasti. Celková dávka by se měla pohybovat kolem 1–2 UI

v případě preparátu Botox® Cosmetic a u Dysportu® 2–4 UI do jednoho až dvou vstříkovacích míst [35].



Obrázek 9 Oblast dolních víček [35]

#### 4.1.3.4 Oblast nosu

Vrásky nacházející se na nose, také označované jako „bunny lines“ (v překladu králičí vrásky), vznikají aktivitou svalu nosního (*musculus nasalis*). Při smíchu, mračení či mluvení dochází k jejich zdůraznění. Mohou se objevit jako nežádoucí účinek po ošetření vějířkovitých vrásek nebo glabelární oblasti [12, 40].

Aplikace BTX-A do svalu nosního se provádí ve dvou bodech (viz obrázek 10) a je při tom důležité dbát na jemnost vpichů, neboť pokožka je v těchto místech velmi tenká a mohlo by tak dojít ke kontaktu s okosticí (vazivový obal kryjící povrch kostí), což je velmi bolestivé. Celková dávka 2–5 UI Botoxu® Cosmetic (6–15 UI Dysportu®) je rozdělena mezi dvě injekce [35, 40].



Obrázek 10 Oblast kořene nosu [35]

#### 4.1.3.5 Periorální oblast

##### Vrásky kolem úst

Opakující se kontrakce a relaxace kruhového svalu ústního (*musculus orbicularis oris*) při mluvení a v průběhu konzumace vedou k postupnému rozvoji tzv. „kuřáckých vrásek“. Začínají se tvořit v průběhu čtvrté dekády života a to zejména u žen. Prvotní projevy těchto vrásek lze ošetřit pomocí laseru, ale procesem postupného stárnutí kůže a ztráty elasticity, se vrásky začínají prohlubovat a tak mohou být úspěšně léčeny botulotoxinem [39].

Injekce by měly být umístěny do středu vrásky alespoň 1–2 mm od přechodu rtů na normální kůži. Do každé vrásky je doporučováno aplikovat 1–2 UI Botoxu® Cosmetic a 2–4 UI Dysportu® [12, 39]. Lokalizace vpichů je znázorněna na obrázku 11.





Obrázek 11 Oblast kolem úst [37]

### Marionetové vrásky

Marionetové vrásky se jeví jako hluboké záhyby, vedoucí od koutků úst šikmo směrem dolů. Vznikají nadměrnou činností plochého svalu, který koutky táhne dolů (*musculus depressor anguli oris*). Oslabení tohoto svalu pomocí BTX-A způsobí, že velký sval lícní (*musculus zygomaticus major*) a zdvihač ústního koutku (*musculus levator anguli oris*) zvednou koutky úst zpět do vodorovné polohy [35].

Aplikace se provádí minimálně 1 cm od koutků úst [35]. Na obrázku 12 jsou znázorněny body, do kterých je BTX-A pomocí injekce aplikován. Počet jednotek přípravku Botox® Cosmetic se pohybuje v rozmezí od 3 do 6 UI a u přípravku Dysport® se toto rozmezí pohybuje od 6 do 12 UI. Nejlepších výsledků lze dosáhnout kombinací BTX-A s laserem a výplňovými materiály. Pokožka má díky laseru hladší povrch a výplňové materiály dodají rtům plnost [29, 39].





Obrázek 12 Oblast marionetových vrásek [37]

#### 4.1.3.6 Oblast brady a krku

Vrásky na bradě vznikají aktivitou mimického svalu (*musculus mentalis*) a jeví se jako důlek či rýha. Obvykle je pro aplikaci vybrán jeden nebo dva postranní body, jeden na pravé a druhý na levé straně a to vždy minimálně 1 cm od spodního rtu. Celková dávka je 2,5–8 UI preparátu Botox® Cosmetic a pro Dysport® 2,5–20 UI [37].

Tzv. „krční pásy“ vznikají v průběhu stárnutí tím, že kůže ztrácí elasticitu. S přibývajícím věkem dochází k oddělení širokého tenkého svalu v podkoží krku (*musculus platysma*). V závislosti na délce vrásky je vybráno 4–8 bodů, které jsou od sebe alespoň 1,5 cm vzdálené. Pro snadnější aplikaci je užitečné si „pásy“ přidržit rukou. Doporučená dávka do každého vybraného místa je 2 UI Botoxu® Cosmetic a 5 UI Dysportu® [29, 35, 39].

#### 4.1.4 Kontraindikace a komplikace

Existuje mnoho důvodů, kvůli kterým by pacient neměl podstoupit léčbu botulotoxinem. Mezi nejčastější kontraindikace patří [41]:

- gravidita a kojení
- porucha neuromuskulárního přenosu
- infekční onemocnění v místě aplikace

- aplikace do míst s lokálním otokem
- léky zasahující na nervosvalovou ploténku, které mohou zesilovat či naopak snižovat efekt botulotoxinu
- alergie na BTX-A, lidský albumin nebo fyziologický roztok [2, 41]

Většina komplikací je způsobena aplikací injekce do nesprávného místa a vysokým dávkováním. U pacienta se vyskytují mírné bolesti a modřiny v ošetřované oblasti, bolesti hlavy a žaludeční nevolnost. S modřinami se lze nejčastěji setkat při korekci vějířkovitých vrásek u vnějšího koutku oka, protože je v tomto místě kůže velmi tenká a vyskytuje se zde mnoho povrchových cév [42].

Častou komplikací při ošetřování glabelárních vrásek je ptóza (pokles) víček. Je způsobena migrací toxinu, objevuje se za 7–10 dní po aplikaci a přetrvává 2–4 týdny. Ptóza obočí se vyskytuje při léčbě horizontálních vrásek na čele [41, 42].

Hlavním problémem při aplikaci BTX-A v periorbitální oblasti je šíření toxinu do okolních svalů. Mezi nejčastější komplikace této oblasti se řadí pokles víček, dvojitě vidění, výskyt modřin, ekchymóza (menší krvácení do kůže) či ptóza rtů. Je doporučováno tuto oblast chladit. Tyto komplikace jsou zaznamenávány i při léčbě vrásek v oblasti kořene nosu [35].

Závažnější komplikace se vyskytují při ošetřování vrásek ve spodní části obličeje. Může dojít k funkčnímu poškození rtů, což se projevuje obtížemi při jídle a pití, slinotáním, asymetrií rtů nebo také problémy s artikulací. Aby se těmto problémům předešlo, je dobré začít nízkými dávkami a podle potřeby aplikaci opakovat. Na krku se po aplikaci běžně vyskytují modřiny [2, 35, 42].

## 4.2 Hyperhidróza

Tato kapitola je věnována problematice týkající se hyperhidrózy a možnosti jejího potlačení pomocí BTX-A.

### 4.2.1 Potní žlázy

Pocení je fyziologický proces potřebný k termoregulaci. Je zprostředkováno potními žlázami, kterých je na těle přibližně čtyři miliony. Produkují odpadní produkty látko-

vé výměny, jako je např. draslík, sodík, vápník, kyselina mléčná, močovina a aminokyseliny. Existují dva druhy: ekrinní a apokrinní [43].

Žlázy ekrinní jsou malé potní žlázy, nacházející se po celém těle s výjimkou nehtového lůžka, rtů a genitálu. Největší počet těchto žláz je na dlaních, chodidlech a v podpaží. Jejich celkový počet je odhadován na 2,5–3 miliony. Produkuje průhledný pot bez zápachu, sloužící k regulaci teploty těla [43].

Apokrinní žlázy (pachové) se nacházejí pouze v některých lokalitách: v podpaží, na genitáliích a v okolí prsního dvorce. Sekret apokrinních žláz je mléčně zakalený. Zápach vzniká až rozkladem potu mikrobiální flórou [43].

#### **4.2.2 Primární a sekundární hyperhidróza**

Hyperhidróza je definovaná jako nadbytečná produkce potu v reakci na teplo nebo emocionální podněty. Významně zasahuje do života jednotlivce – způsobuje emocionální a sociální problémy, snižuje kvalitu života, ale také zvyšuje riziko kožních infekcí. Může být primární (místní) nebo sekundární (generalizovaná) [44, 45].

Primární (lokální) hyperhidróza, nebo také primární fokální hyperhidróza (PFH), se vyznačuje konstantním a nadměrným pocením, vzniklým z neznámé příčiny, které se vyskytuje převážně v podpaží (axilární hyperhidróza), na dlaních (palmární hyperhidróza) a na chodidlech (plantární hyperhidróza). Začíná se projevovat už v dětství nebo v období dospívání a postihuje 0,6–3 % populace [43, 44, 45].

Sekundární hyperhidróza může být vyvolána chronickou a akutní infekcí, různými léky, systémovým onemocněním, psychickou, endokrinní či metabolickou poruchou, dýchacími, kardiovaskulárními problémy, ale také abstinenčními příznaky (alkohol, drogy) [43, 44, 45].

##### **4.2.2.1 Metody měření fokální hyperhidrózy**

Pro objektivní posouzení fokální hyperhidrózy slouží tři základní vyšetření: optická metoda, Minorův test a gravimetrická metoda [43].

Při optické metodě se pozoruje sekreční činnost během vyšetření pacienta. Sleduje se velikost skvrn vytvořených na tričku či blůze. Skvrny v průměru do 5 cm se považují za normu, skvrny v průměru od 5 do 10 cm jsou posuzovány jako mírná hyperhidró-

za a skvrny s průměrnou velikostí 10–20 cm jako těžká hyperhidróza. Skvrny větší než 20 cm v průměru jsou typické pro závažnou hyperhidrózu [43].

Minorův test (škrobovo-jodová zkouška) spočívá v aplikaci 3,5% roztoku jodu v alkoholu na postiženou část, která musí být umytá, oholená a suchá. Po zaschnutí jodu je nanesen škrob, čímž dojde k chemické reakci. V místě aktivních ekrinních žláz s přebytkem potu se vytvoří tmavě fialové až černé zbarvení [43, 44].

Gravimetrická metoda (zkouška filtračním papírem) se pro objektivní měření fokální hyperhidrózy používá nejčastěji. Na postižené místo se přiloží filtrační papír na stanovenou dobu (většinou 60 vteřin nebo 5 minut), který je před tím zvážen. Poté se filtrační papír opět zváží a rozdíl hmotností kvantifikuje množství potu vyprodukovaného v průběhu času. Pro palmární hyperhidrózu je kritérium pro ženy i muže 30–40 mg/min [43, 44].

#### 4.2.3 Léčba PFH

PFH může být léčena pomocí chirurgického zákroku, ale existují také méně invazivní metody [44]. Tabulka 4 znázorňuje možnosti v léčbě primární axilární a palmární hyperhidrózy.

Tabulka 4 Léčebný algoritmus primární axilární a palmární hyperhidrózy [12]

Primární axilární hyperhidróza	Primární palmární hyperhidróza
Antiperspiranty ▼	Chlorid hlinitý 10–35% ▼
Chlorid hlinitý 10–35% ▼	Iontofórzeza ▼
Injekce BTX-A ▼	Injekce BTX-A ▼
Kyretáž, liposukce	Endoskopická thorakoskopická Sympatektomie

V první linii léčby primární axilární hyperhidrózy neinvazivním způsobem mají své místo antiperspiranty, obsahující hlinité soli většinou v koncentracích 1–2 %. Nicméně antiperspiranty mají pouze krátkodobý efekt, což vyžaduje častější aplikaci. [44, 46].

Roztoky obsahující chlorid hlinitý ve vyšších koncentracích jsou považovány za efektivnější léčbu než antiperspiranty. Přípravky většinou obsahují 15% chlorid hlinitý hexahydrát ve vodném roztoku, který je zahuštěný methylcelulózou. Mechanismus účinku je založený na mechanickém ucpání potních žláz a dlouhodobým používáním může dojít až k atrofii (zmenšení) sekrečních buněk. Aby se minimalizovaly vedlejší účinky jako je pálení či vznik iritační dermatitidy, je vhodné provést aplikaci večer na suchou a čistou pokožku [12, 46].

Využití iontoforézy v léčbě palmární či plantární hyperhidrózy bylo do praxe zavedeno v roce 1952. Jedná se o účinnou neinvazivní metodu s minimálními vedlejšími účinky. Iontoforéza pravděpodobně pracuje na principu ucpání potních žláz na úrovni *stratum corneum*, ale přesný mechanismus účinku není známý. Ruce nebo nohy jsou umístěny do mělké nádoby naplněné vodou z kohoutku, kterou prochází elektrický proud o velikosti 15–20 mA po dobu 15–30 minut. Mezi vedlejší účinky se řadí začervenání, pálení či suchá pokožka [12, 43, 46].

Chirurgický zákrok je jednou z posledních možností, kterých se využívá u závažných případů. Mezi nejinvasivnější se řadí endoskopická thorakoskopická sympatektomie, při které dochází k přerušení dráhy nervových impulsů. Kyretáž a liposukce jsou další možnosti léčby. Jedná se o odstranění axilárních potních žláz pod lokální anestezii [12, 46].

#### **4.2.3.1 Terapie pomocí BTX-A**

Injekce BTX-A jsou nejefektivnější léčbou PFH bez chirurgického zákroku. BTX-A je aplikován intradermálně, načež inhibuje uvolnění acetylcholinu ze sympatických nervových vláken, které stimulují ekrinní potní žlázy. Již první týden po aplikaci je u pacientů zaznamenáno zlepšení. Léčba selže pouze zřídka a v tomto případě je nutné BTX-A znovu aplikovat. Trvání tohoto účinku se pohybuje průměrně od 6 do 9 měsíců. Bezprostředně po léčbě a alespoň 48 hodin po ošetření je nutné omezit fyzickou činnost, sportování, vyhýbat se UV záření a sauně [12, 43, 46].

#### Axilární hyperhidróza

Při léčbě primární axilární hyperhidrózy je důležité, aby pacient danou oblast po dobu 48 hodin před zákrokem neholil a nepoužíval antiperspiranty. Před samotným zásahem se na suchém a čistém podpaží provede Minorův test a po zbarvení se pomocí pera načrtne obrys této oblasti. Podpaží se poté očistí, vydezinfikuje a vysuší.

Poté se rovnoměrně, asi 2 cm od sebe, zaznačí 10–15 injekčních bodů (obrázek 13). Jedna ampule Botoxu® obsahující 100 UI se naředí 4–5 ml fyziologického roztoku. Do každého zakresleného bodu se vstříknou 3–4 UI, tak aby celková dávka na jedno podpaží byla 50 UI. Nakonec se podpaží opět očistí. Po 16 týdnech od poslední aplikace by se měla léčba opakovat.



*Obrázek 13 Aplikační body v podpaží [43]*

#### Palmární a plantární hyperhidróza

Oblasti palmární i plantární hyperhidrózy obsahují mnoho nervových zakončení, čímž se aplikace BTX-A stává velmi bolestivou. Pro snížení bolesti existuje několik anestetických metod. Nejúčinnější je zablokování mediánního a ulnárního nervu, který vede rukou. Avšak ne všichni lékaři umí tento postup spolehlivě vykonat, čímž vzniká riziko trvalého poškození nervu. Nejvíce preferovanou metodou je kryoanestezie díky své efektivitě, nízkým nákladům a pohodlí. Spočívá v ochlazení oblasti po dobu 15 minut před zákrokem. U zvláště citlivých pacientů je možné 30–60 minut před zahájením aplikace BTX-A natřít podpaží krémem obsahující lidokain. Dále se využívají různá orální či intravenózní (nitrožilní) sedativa [12, 44].

Stejně jako u axilární hyperhidrózy se před léčbou provádí Minorův test a následně se rovnoměrně zaznačí 25–30 bodů (obrázek 14). Lahvička Botoxu® obsahující 100 UI se zředí 4 nebo 5 ml fyziologického roztoku a do každého bodu se aplikují 2–3 UI. Celková dávka pro jednu dlaň je 100 UI a pro plosku nohy 150 UI [12, 44].



*Obrázek 14 Aplikační body na dlaních [43]*

#### **4.2.3.2 Kontraindikace a komplikace**

Léčba botulotoxinovými injekcemi není určena pro pacienty trpící sekundární hyperhidrózou kvůli jejich zdravotnímu stavu. S opatrností by se mělo postupovat u pacientů, kteří již podstoupili chirurgické odstranění potních žláz. Pro zákrok je dále nežádoucí infekce v místě vpichu a v neposlední řadě také těhotné a kojící ženy [44].

Kromě bolesti spojené s aplikací injekcí je nejčastější komplikací lokální svalová slabost, která se vyskytuje nejvíce při léčbě palmární hyperhidrózy. Většinou se jedná o slabost přechodnou, trvající po dobu několika týdnů od injekcí. Podle jedné studie, kdy 36 pacientů podstoupilo léčbu palmární hyperhidrózy, došlo u jedné třetiny i k nepatrnému zlepšení plantární hyperhidrózy, ale u dvou třetin bylo zaznamenáno naopak významné zhoršení, což bylo i gravimetricky dokázáno [44].

## ZÁVĚR

Z literární rešerše o botulotoxinu a jeho využití v kosmetice bylo zjištěno následující:

- Botulotoxin je neurotoxin produkovaný bakterií *Clostridium botulinum* a řadí se mezi jednu z nejtoxičtějších látek na světě. Skládá se ze dvou řetězců, lehkého a těžkého, z nichž každý má svojí specifickou funkci v rámci toxického účinku na organismus. Těžký řetězec zodpovídá za navázání neurotoxinu na receptory presynaptické membrány a lehký řetězec je zodpovědný za znemožnění uvolnění acetylcholinu do synaptické štěrbině. Následkem toho dochází k inhibici samotného nervosvalového přenosu.
- Skutečností, že botulotoxin způsobuje svalovou paralýzu, využívá dermatologická praxe při redukci vrásek a v léčbě nadměrné hyperhidrózy. Nejpoužívanějšími produkty jsou Botox® Cosmetic a Dysport®. Množství BTX-A obsažené v daném preparátu je uváděno v mezinárodních jednotkách UI. Před aplikací BTX-A je nutné provést ředění daného preparátu pomocí fyziologického roztoku. Rozsah ředění závisí na indikované oblasti.
- Používané koncentrace při redukci vrásek jsou přibližně 25krát menší, než je letální dávka pro člověka vážícího 70 kg.
- Mezi nejčastěji ošetřované oblasti se řadí oblast glabelárních vrásek, horizontálních vrásek na čele a vrásek u vnějšího koutku oka. BTX-A je aplikován inzulinovou jehlou do místa, kde je potřeba přerušit svalovou aktivitu. Doba trvání účinku je 2–3 měsíce. Ošetření smí provádět pouze zkušený specialista.
- Mezi hlavní kontraindikace patří gravidita a kojení, porucha neuromuskulárního přenosu, infekční onemocnění či lokální otok v místě aplikace, ale také alergie na samotný BTX-A, lidský albumin nebo fyziologický roztok.
- BTX-A se používá i ke snížení axilární, palmární a plantární hyperhidrózy. U posledních dvou zmíněných bývá aplikace velice bolestivá, proto se v rámci anestezie daná oblast ochlazuje – tzv. kryoanestezie nebo se také nanáší krém s lidokainem. Efekt trvá přibližně 6–9 měsíců.



**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] NIGAM, P. K. a A. NIGAM. Botulinum toxin. *Indian Journal of Dermatology*. 2010, roč. 55, č. 1, s. 8–14. DOI: 10.4103/0019-5154.60343. Dostupné z: <http://www.eijd.org/article.asp?issn=00195154;year=2010;volume=55;issue=1;spage=8;epage=14;aulast=Nigam>
- [2] KULÍKOVÁ, Z. Botulotoxin a jeho využití v dermatologii. *Medicína pro praxi*. 2008, roč. 5, č. 11, s. 443–445. ISSN: 1214-8687
- [3] ROSYPAL, S. *Obecná bakteriologie*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1981.
- [4] BEDNÁŘ, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie*. Praha, 1997. ISBN 859-4-315-0528-0.
- [5] VOHÁŇKA, S. a B. MIČÁNKOVÁ. Botulotoxin a jeho využití v neurologii. *New EU Magazine of Medicine* [Online] 2009, roč. 4, č. 1–2, s. 13–21. Dostupné z: [http://www.neumm.cz/public/img/neumm\\_09\\_12/pdf/vohanka\\_botulotoxin.pdf](http://www.neumm.cz/public/img/neumm_09_12/pdf/vohanka_botulotoxin.pdf)
- [6] RŮŽIČKOVÁ JAREŠOVÁ, L. Stárnutí kůže a péče o ni. *Medicína pro praxi*. 2012, roč. 9, č. 6–7, s. 293–296. ISSN: 1803-5310.
- [7] JULÁK, J. *Klinicky významné bakterie*. 1. vyd. Praha: Triton, 2012, 123 s. ISBN 978-80-7387-588-6.
- [8] KLABAN, V. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. české vyd. Praha: Galén, 2005, 654 s. ISBN 80-726-2341-9.
- [9] DESHPANDE, S. *Handbook of food toxicology*. New York: Marcel Dekker, c2002, x, 903 s. ISBN 08-247-0760-5.
- [10] KRHUT, J. Botulotoxin – struktura, mechanismus účinku a klinické použití. *Urologie pro praxi* 2006, roč. 7, č. 6, s. 278–282. ISSN: 1213-1768.
- [11] HANCHANALE, V. a kol. The Unusual History and the Urological Applications of Botulinum Neurotoxin. *Urologia Internationalis* [Online] 2010, roč. 85, č. 2, s. 125–130. DOI: 10.1159/000317517. Dostupné z: <http://www.karger.com/Article/Pdf/317517>
- [12] TRUONG, D. a kol. *Manual of botulinum toxin therapy*. 1st ed. New York: Cambridge University Press, 2009, xvi, 218 s. ISBN 978-052-1694-421.

- [13] EMMELUTH, D. *Botulism*. 2nd edition. Washington University School of Medicine: Chelsea House Publishers, 2010. ISBN 978-1-4381-3214-3.
- [14] BARON, S. *Medical Microbiology*, 4th edition [online]. University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996 [cit. 2015-07-16]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8219/>
- [15] JULÁK, J. *Úvod do lékařské bakteriologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006, 404 s. ISBN 80-246-1270-4.
- [16] SOBEL, J. Botulism. *Clinical Infectious Diseases* [Online] 2005, roč. 41, č. 8. DOI: 10.1086/444507. Dostupné z: <http://cid.oxfordjournals.org/content/41/8/1167.full>
- [17] World Health Organization. *Botulism* [online]. 2013 [cit. 2015-07-16]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs270/en/>
- [18] SIMPSON, L. L. *Botulinum neurotoxin and tetanus toxin*. San Diego: Academic Press, 1989, 422 s. ISBN 01-264-4445-5.
- [19] ZHOU, Y. a kol. The Genes for the Clostridium botulinum Type G Toxin Complex Are on a Plasmid. *American Society for Microbiology* [Online] 1995, roč.63,č. 5. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC173270/pdf/632087.pdf>
- [20] PATOČKA, J. Trendy v terapii botulismu. *Kontakt*. 2010, roč. 12, č. 2., s. 207-211. ISSN: 1212-4117.
- [21] CHEN, Z. a kol. Emerging Opportunities for Serotypes of Botulinum Neurotoxins. *Toxins* [Online] 2012, roč. 4, č. 11. DOI: 10.3390/toxins4111196. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2072-6651/4/11/1196>
- [22] LEBEDA, F. a kol. Onset dynamics of type A botulinum neurotoxin-induced paralysis. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*[Online] 2008, roč. 35, č. 3., s. 251-267. DOI: 10.1007/s10928-008-9087-3. Dostupné z: <http://www.ebi.ac.uk/biomodelsmain/staticpages.do?page=ModelMonth%2F2010-08>
- [23] NANTEL, A. J. Clostridium botulinum. *Centre de Toxicologie du Québec* [Online] 1999. Dostupné z: <http://www.who.int/csr/delibepidemics/clostridiumbotulism.pdf>

- [24] KLAUZOVÁ, K. Jizvy a jejich léčba. *Praktické lékárenství* [Online] 2009, roč. 5, č. 3., s. 124-129. Dostupné z: <http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2009/03/05.pdf>
- [25] DYLEVSKÝ, I. *Funkční anatomie*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009, 532 s. ISBN 978-80-247-3240-4.
- [26] MERKUNOVÁ, A. a M. OREL. *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2008, 302 s. ISBN 978-80-247-1521-6.
- [27] LÜLLMANN, H. a spol. *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, 2004, 725 s. ISBN 80-247-0836-1.
- [28] MUCHOVÁ, M. Botulotoxin A v léčbě dětské mozkové obrny. *Pediatric pro praxi* 2011, roč. 12, č. 3, s. 194–198.
- [29] BAUMANN, L. a spol. *Cosmetic Dermatology: Principles and Practice*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, c2009, xiv, 366 s. ISBN 978-0-07-149062-7.
- [30] LITVIK, R. Hormonální stárnutí kůže. *Dermatologie pro praxi* 2008, roč. 2, č. 5-6, s.226–229.
- [31] BAUMANN, L. Skin ageing and its treatment. *Journal of Pathology* 2007, roč. 211, č. 2, s. 241–251
- [32] MOSKALYKOVÁ, M. Skin aging. *Referátový výběr z dermatovenerologie: Odborný čtvrtletník* 2009, roč. 51, Spec. 3, s. 9–16.
- [33] ROZSÍVALOVÁ, V. *Kosmetika I: pro studijní obor Kosmetička*. 2., aktualiz. vyd. Praha: Informatorium, 2010, 139 s. ISBN 978-80-7333-080-4.
- [34] KYKALOVÁ, K. Vrásky- klasifikace a kombinované metody řešení. *Referátový výběr z dermatovenerologie: Odborný čtvrtletník* 2009, roč. 51, Spec. 3, s. 50–56.
- [35] CURINGA, G. a A. RUSCIANI. Botulinum Toxin Type A Treatment in Facial Rejuvenation. *Minimally invasive Procedures for Facial Rejuvenation*; OMICS Group: Foster City, USA, 2014
- [36] ROHRSTED, M. a kol. *Onabotulinum Toxin A (Botox®) in the Treatment of Neurogenic Bladder Overactivity* 2012. roč. 4, č. 2, s. 437-442 DOI: 10.5812/numonthly.1864. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614280/>

- [37] DE SA EARP, A. P. a E. S. MARMUR. *The five D's of botulinum toxin: Doses, dilution, diffusion, duration and dogma* 2008. roč. 10, č. 2, s. 93-102. DOI: 10.1080/14764170701883660. Dostupné z: <http://marmurmedical.com/site/wp-content/uploads/2013/03/The-Five-Ds-of-Botulinum-Toxin.pdf>
- [38] SMALL, R. Botulinum Toxin Injection for Facial Wrinkles. *American Family Physicians* [online]. 2014, roč. 90, č. 3, s. 168–175 [cit. 2016-01-25]. Dostupné z: <http://www.aafp.org/afp/2014/0801/p168.html>
- [39] BENNINGER, M. S. a P. KNOTT. *Techniques of botulinum toxin injections in the head and neck*. San Diego, CA: Plural Pub., 2012, xvi, 136 s. ISBN 15-975-6442-7.
- [40] DE MAIO, M. a B. RZANY. *Botulinum toxin in aesthetic medicine*. Berlin: Springer, 2007. ISBN 978-354-0340-942.
- [41] BENEDETTO, A. V. The cosmetic uses of Botulinum toxin type A. *Internation Journal of Dermatology*[online]. 2002, roč. 38, č. 9, s. 641-655. DOI: 10.1046/j.1365-4362.1999.00722.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-4362.1999.00722.x>
- [42] GRIMES, P. E. *Aesthetics and cosmetic surgery for darker skin types*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams, 2008, xvi, 352 p. ISBN 07-817-8403-4.
- [43] BLAŠKO, M. Hyperhidróza: anatomia, patofyziológia a liečba s dôrazom na úlohu botulotoxínu A. *Dermatológia pre prax*. 2014, roč. 8, č. 3, s. 108–112. ISSN 1337-1746.
- [44] HUDDLE, J. R. *Hyperhidrosis : Causes, Treatment Options and Outcomes* [online]. New York: Nova Science Publishers, 2014 [cit. 2016-01-25]. ISBN: 9781633215443.
- [45] CALLEJAS, M. A. a kol. Hyperhidrosis Update. *ACTAS Dermo-Sifiliográficas* [online]. 2010. roč. 101, č. 2, s. 110–118. DOI: 10.1016/S1578-2190(10)70597-7. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1578219010705977>
- [46] SCHLERETH T. a kol. Hyperhidrosis—Causes and Treatment of Enhanced Sweating: Surgical Treatment of Focal Hyperhidrosis. *Deutsches Ärzteblatt International* [online]. 2009, roč. 106, č. 3. DOI: 10.3238/arztebl.2009.0448a.

- [47] MCNEW, J. A. *Regulation of SNARE-Mediated Membrane Fusion during Exocytosis* 2008. roč. 108, č. 5, s. 1669–1686. DOI: 10.1021/cr0782325. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr0782325>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

%	Procento
°C	Stupeň Celsia
µg	Mikrogram
ACh	Acetylcholin
BoTN	Botulinum neurotoxins
BTX	Botulotoxin
BTX-A	Botulotoxin typu A
Ca <sup>2+</sup>	Vápenatý iont
cm	Centimetr
Da	Dalton
DEJ	Dermoepidermální junkce
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
FDA	Food and Drug Administration
g	Gram
GAG	Glykosaminoglykany
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
LD <sub>50</sub>	Letální dávka
mA	Miliamper
mg	Miligram
ml	Mililitr
mm <sup>2</sup>	Milimetr čtvereční
ng	Nanogram
nm	Nanometr
PFH	Primární fokální hyperhidróza

---

RTG	Rentgenové záření
SNAP-25	Synaptosomal associated protein
SNAREs	Soluble NSF attachment protein receptors
TTAGG	Thymin-Thymin-Adenin-Guanin-Guanin
tzv.	Takzvaný
C.	<i>Clostridium</i>
UI	Mezinárodní jednotka
UV	Ultrafialové záření
UVA	Ultrafialové záření o vlnové délce 320–400 nm
UVB	Ultrafialové záření o vlnové délce 290–320 nm
UVC	Ultrafialové záření o vlnové délce 10–290 nm
VAMP2	Vesicle associated membrane protein

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 Schematické znázornění BoTN [22].....	15
Obrázek 2 Lokalizace vrásek [38].....	27
Obrázek 3 Lokalizace obličejových svalů [38].....	27
Obrázek 4 Glabelární oblast [35].....	28
Obrázek 5 Frontální oblast [35].....	29
Obrázek 6 Periorbitální oblast [35].....	30
Obrázek 7 Místa vpichu pro první techniku [35].....	31
Obrázek 8 Místa vpichu pro druhou techniku [35].....	31
Obrázek 9 Oblast dolních víček [35].....	32
Obrázek 10 Oblast kořene nosu [35].....	33
Obrázek 11 Oblast kolem úst [37].....	34
Obrázek 12 Oblast marionetových vrásek [37].....	35
Obrázek 13 Aplikační body v podpaží [43].....	40
Obrázek 14 Aplikační body na dlaních [43].....	41



**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 Charakteristika skupin Clostridium botulinum [4,9] .....	11
Tabulka 2 Vztah serotypů BTX ke strukturám presynapticé membrány [5] .....	18
Tabulka 3 Doporučené ředění pro preparáty Botox® Cosmetic a Dysport® [35] .....	26
Tabulka 4 Léčebný algoritmus primární axilární a palmární hyperhidrózy [12].....	38

