

Wykorzystanie

mikroskopii sił atomowych w kosmetologii

Techniki badawcze *ex vivo* zyskały popularność i uznanie środowiska naukowego dzięki swoim niezaprzeczalnym zaletom przy ocenie skuteczności działania zarówno gotowych produktów kosmetycznych, jak i wchodzących w ich skład substancji aktywnych. Jedną z najnowocześniejszych, ale również najbardziej wnikliwych analiz w skali nano, jest mikroskopia sił atomowych.

AFM (ang. *Atomic Force Microscopy*) to technika, która wykorzystuje zdolności mikroskopu skaningowego do potwierdzenia skuteczności działania składników kosmetycznych i gotowych kosmetyków. Technika pomiaru polega na "skanowaniu" powierzchni badanej próbki za pomocą sondy, którą jest ostrze umieszczone w płaskiej sprężynie. Dociskane przez przetwornik piezoelektryczny ostrze przesuwają się po powierzchni próbki z dokładnością do 1 nm. W efekcie, podczas przesuwania ostrzem po nierównościach próbki, dochodzi do ugięcia sprężyny. Ugięcie to mierzone jest układem optycznym, a następnie pomiar tego ugięcia zamieniany jest na sygnał napięciowy. Kontroler utrzymuje stałe ugięcie poprzez skracanie bądź wydłużanie przetwornika piezoelektrycz-

nego podczas skanowania powierzchni. Uzyskany obraz topograficzny próbki w bardzo wysokiej rozdzielczości uzyskuje się dzięki mapowaniu wartości wydłużenia przetwornika w każdym punkcie położenia sondy na próbce. Taki typ pomiaru, podczas którego próbka ma kontakt z ostrzem, nazywany jest trybem kontaktowym^[1, 3]. AFM posiada szereg zalet, przede wszystkim: bardzo dobrą rozdzielczość i możliwość wykonania pomiarów w nanoskali. Ocenie podlegają chropowatość, tarcie, siły adhezji, elastyczność oraz różnice w topografii badanej próbki i Moduł Young'a. Pomiar można wykonywać w cieczach oraz płynach fizjologicznych, co jest szczególnie ważne w przypadku próbek biologicznych. Wadami metody są długi czas uzyskiwania pojedynczego obrazu oraz obrazowanie jedynie względnie płaskich próbek^[2, 4, 7].

Wykorzystanie mikroskopii sił atomowych do oceny kondycji włosów
Jednym z przykładów zastosowania AFM w kosmetologii jest badanie zmian w morfologii łodyg włosowych. Wraz z wiekiem zmienia się topografia oraz właściwości mechaniczne włosów. Włosy pochodzące od osób w wieku dojrzałym mają nieregularną strukturę, niewyraźnie zarysowane krawędzie oraz bardziej szorstką powierzchnię osłonki w porównaniu do włosów osób młodych^[6]. Po zastosowaniu produktów kosmetycznych struktura włosa ulega zmianom. Obrazowaniem za pomocą AFM można uzyskać informacje o chropowatości otoczki włosa, stopniu odstawania łusek od powierzchni łodygi włosa oraz tarcia na powierzchni otoczki włosa i na jej krawędziach. Odżywki kondycjonujące włosy w analizie AFM powodują wzrost chropowatości i tarcia na po-

wierzchni łodygi włosa głównie ze względu na fakt, iż depozyty kosmetyku zwiększają pofałdowanie badanej struktury.

Wykorzystanie AFM w badaniu korneocytów

Mikroskopia sił atomowych umożliwia ocenę wpływu kosmetyku pielęgnacyjnego na topografię, elastyczność i siły adhezji korneocytów. Do analizy pobiera się martwe komórki naskórka z powierzchni skóry za pomocą taśmy adhezyjnej (ang. *tape-stripping*) przed oraz po zastosowaniu produktu kosmetycznego. Pomiar elastyczności badanych komórek wyznaczany jest na podstawie krzywych "siła-odległość", a siła adhezji określana jest jako siła potrzebna do oderwania ostrza AFM od badanej powierzchni. Po działaniu kosmetyku korneocyty charakteryzowały się silniejszymi oddziaływaniami ostrza z ich powierzchnią, co oznacza, że miały większą siłę adhezji (przylegania). Ponadto charakteryzowały się mniejszą sztywnością, a ich powierzchnia uległa wygładzeniu^[1, 3].

Wykorzystanie AFM w badaniu fibroblastów

Fibroblasty są głównymi komórkami skóry właściwej. Ich zadaniem jest produkcja włókien kolagenowych - spoiwa tkanki nadającej jej elastyczność. Analizę AFM fibroblastów wykonuje się w komorze cieczowej, dzięki której możliwe jest wykonanie badań w warunkach fizjologicznych. Monitorowaniu podlegają wychylenia ramienia z ostrzem od skanera piezoelektrycznego z próbką. Wychylenie odpowiada sile działającej między ostrzem a powierzchnią próbki. Ze względu na to, że odkształcenie większości materia-

łów następuje w sposób plastyczny lub elastyczny, a żywe tkanki są szczególnie podatne na tego typu odkształcenia - obserwuje się małe wychylenia ramienia z ostrzem, co jest spowodowane ugięciem elastycznej powierzchni pod wpływem działającej siły.

Udowodniono korelację pomiędzy wiekiem biologicznym skóry, a topografią i sztywnością fibroblastów. Komórki izolowane od osób starszych wykazywały mniejszą elastyczność w porównaniu do komórek pochodzących od osób młodszych. Natomiast poddane działaniu peptydów (niskocząsteczkowych związków o działaniu przeciwmarszczkowym) zwiększały swoją elastyczność i sprężystość do poziomu elastyczności komórek młodych^[5]. Zmiany wielkości Modułu Young'a obserwowane dla żywych komórek w analizie AFM obrazują zmiany w budowie cytoskieletu^[7]. Wykazano, że peptydy stosowane w kosmetykach przeciwstarzeniowych obniżają wartość Modułu Young'a, co jest równoznaczne ze wzrostem sprężystości i elastyczności fibroblastów^[1].

Podsumowanie

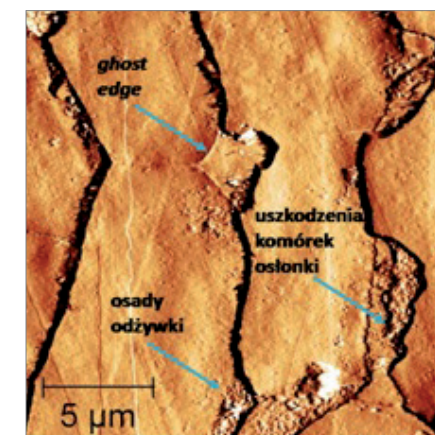
Mikroskopia sił atomowych stanowi użyteczne narzędzie do oceny działania składników aktywnych (np. peptydów) i produktów kosmetycznych na komórki skóry lub łodygi włosów. Jest to precyzyjna i wielowymiarowa metoda, dająca możliwość nowoczesnego w skali nano potwierdzenia wpływu substancji kosmetycznych na kondycję skóry i włosów. Najnowsza wersja mikroskopu sił atomowych (HS-AFM) umożliwia badanie próbek biologicznych w warunkach fizjologicznych w rozdzielczości submolekularnej. Wgląd w dynamikę białek błonowych oraz mechanizmy molekularne jednej cząsteczki na poziomie komórkowym wraz z możliwością obrazowania w nanometrycznej rozdzielczości pozwoli HS-AFM na otwarcie nowej

ery w badaniu właściwości i mechanizmów działania produktów kosmetycznych. Pozwoli także na szybsze wykrywanie zmian w topografii skóry^[8].

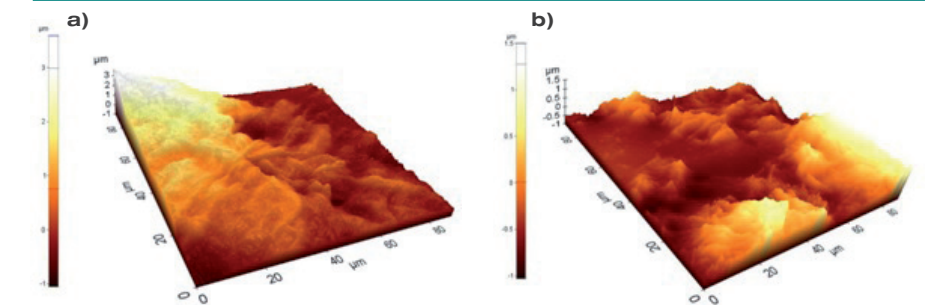
KAROLINA PITERA
specjalista ds. badań *in vivo*
Centrum Naukowo-Badawcze
Dr Irena Eris

Literatura:

1. Tyszczyk B.: Zastosowanie mikroskopii sił atomowych we współczesnej kosmetologii. Świat Przemysłu Kosmetycznego, 2012, 1: 11-13.
2. Piórkowska A.: Zastosowanie mikroskopu sił atomowych w kosmetologii. Praca magisterska, 2010, UMK Toruń.
3. Dulińska-Molak I., Lekka M., Lewandowska M., Pasikowska M., Tyszczyk B., Eris I.: Preliminary studies on the characteristics of corneocytes using atomic force microscopy (AFM). Polish Journal of Cosmetology, 2012, 15: 50-57.
4. Tyszczyk B., Strzelecki J., Nowakowska J., Vincent C., Dębowska R., Rogiewicz K., Eris I.: Skaningowa mikroskopia elektronowa oraz mikroskopia sił atomowych w badaniu wpływu produktów kosmetycznych na uszkodzone łodygi włosowe w obrębie owłosionej skóry głowy. Dermatologia Estetyczna, 2011, 4: 223-233.
5. Dulińska-Molak I., Pasikowska M., Pogoda K., Lewandowska M., Eris I., Lekka M.: Age-Related changes in the mechanical properties of human fibroblasts and its prospective reversal after anti-wrinkle tripeptide treatment. Int J Pept Res Ther, 2014, 20: 77-85.
6. Jeong K.H., Kim K.S., Lee G.J., Choi S.J., Jeong T.J., Shin M.K.: Investigation of aging effects in human hair using atomic force microscopy. Skin Res Technol, 2011, 17: 63-68.
7. <http://www.instytucja.pan.pl/index.php/wydziaj/wydzia-iii/aktualnoci-wydziaj/1907-skaningowy-mikroskop-si-atomowych-afm-i-jego-zastosowanie-w-medycynie>.
8. Eghiaian F., Rico F., Colom A., Casuso I., Scheuring S.: High speed atomic force microscopy: imaging and force spectroscopy. FEBS Lett, 2014, 588: 3631-8.



Rysunek 1. Morfologia komórek osłonki włosa w mikroskopie sił atomowych po zastosowaniu odżywki do włosów



Rysunek 2. Topografia powierzchni korneocytów w ujęciu 3D przed zastosowaniem (a) i po 2 tygodniach stosowania kosmetyku (b)