

Jak działają kosmetyki?

Nauki biologiczne od dawna usiłują odkryć możliwość zapobiegania starzeniu się komórek lub odwracania tego procesu. Dotyczy to także komórek skóry. Od wielu lat na świecie, a obecnie także i w Polsce, przemysł kosmetyczny świadomie ingeruje w biologię skóry.

■ RENATA DĘBOWSKA

Nauki przyrodnicze powinny służyć ludziom. Kosmetologia stała się jedną z nauk biologicznych uwzględniającą aspekty fizjologii skóry jako narządu integrującego człowieka z otaczającym go światem bodźców zewnętrznych.

BUDOWA SKÓRY

Skóra jako układ wielu warstw komórek o wyspecjalizowanych funkcjach jest pierwszą barierą chroniącą organizm przed urazami mechanicznymi i utratą wody. Jako zewnętrzna powłoka umożliwia wydalanie i wchłanianie różnych substancji oraz przekazuje do układu nerwowego informacje o otaczającym świecie. Jest ona zbudowana z dwóch warstw: naskórka oraz skóry właściwej. Pod nimi znajduje się warstwa podskórna, która pełni rolę układu wykonawczego w systemach termoregulacji oraz równowagi wodno-elektrolitycznej.

Najgłębiej położona warstwa podskórna

jest zbudowana ze splecionych ze sobą i zbitych włókien tkanki łącznej oraz komórek tłuszczowych – adipocytów. Do nich dochodzą zakończenia włókien nerwowych oraz naczynia krwionośne, a także części wydzielnicze gruczołów potowych. Włókna tkanki łącznej odpowiadają w dużej mierze za mechaniczną wytrzymałość skóry. Obecność adipocytów ma wpływ na właściwości termoizolacyjne skóry, które z jednej strony chronią przed utratą ciepła i zapobiegają wyziębianiu organizmu, a z drugiej strony izolują od zbyt wysokiej temperatury otoczenia. Wyściółka tłuszczowa chroni także narządy wewnętrzne przed urazami mechanicznymi.

Tkanka tłuszczowa w warstwie podskórnej zależy od czynników genetycznych, płci oraz diety i trybu życia, może mieć wpływ na zewnętrzny wygląd skóry – dotyczy to nadmiernej otyłości oraz zmian o charakterze cellulitu wywołanego zakłóceniami w przepływie limfy.

Skóra właściwa, cieńsza od warstwy podskórnej (1-2 mm, a na stopach i dłoniach 3-4 mm), jest zbudowana z dwóch warstw: brodawkowej zawierającej włókna kolagenowe, sprężyste i siateczkowe oraz warstwy siateczkowej utworzonej z bardzo gęstej sieci włókien kolagenowych, w którą wpleciona jest sieć włókien sprężystych. Brodawkowate wyniosłości, silnie unaczynione i unerwione, są w ścisłym kontakcie z naskórkiem, a włókna siateczkowe tworzą błonę podstawną, w której są zakotwiczone za pomocą wypustek komórki warstwy podstawnej naskórka. W warstwie brodawkowej znajdują się fibroblasty, niewielkie ilości limfocytów, komórek plazmatycznych, komórek tucznych i pojedyncze komórki tłuszczowe. Komórki limfocytów skóry właściwej stanowią podstawę układu immunologicznego całej skóry. Unaczynienie warstwy brodawkowej odgrywa ważną rolę w mechanizmach termoregulacyjnych.

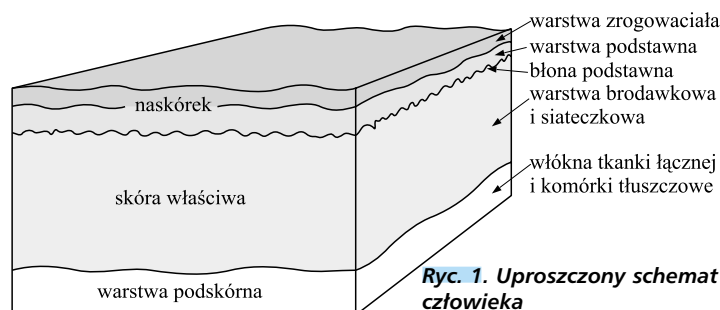
Warstwa siateczkowa o znakomitych właściwościach mechanicznych nie jest silnie unaczyniona – naczynia włosowate są zgrupowane w pobliżu mieszków włosowych lub łożyska paznokci. Włókna kolagenowe budujące tę warstwę biegną we wszystkich kierunkach, a po zerwaniu czy przecięciu ulegają regeneracji. Włókna sprężyste nie są regenerowane i stąd wynika kierunek tzw. klasycznych cięć chirurgicznych skóry przy rozpoczęciu zabiegu. Muszą być one prowadzone w miarę możliwości równoległe do przebiegu włókien sprężystych.

Właściwości elastyczne i sprężyste skóry zawdzięczamy wytwarzanym w fibroblastach

Z punktu widzenia kosmetyki najważniejszą warstwą skóry jest naskórek. Na nim koncentruje się większość zabiegów mających na celu poprawę wyglądu i kondycji cery.

białkom fibrylarnym – kolagenowi i elastynie. Aby zachowały własności mechaniczne, muszą one przebywać w stanie uwodnionym – zachowują swoją strukturę przestrzenną, kiedy między łańcuchami peptydowymi znajdują się cząsteczki wody.

Najbardziej zewnętrzną warstwą skóry jest naskórek, którego wierzchnie warstwy ulegają stopniowej keratynizacji i są usuwane z powierzchni. Martwe komórki (korneocyty, „łuski”) tworzące warstwę rogową przypominają wyglądem piaszczystą plażę wymodelowaną wiatrem. Martwe komórki naskórka są zanurzone w specjalnym spoiwie, często porównywanym do zaprawy murarskiej spajającej „cegielki” – stąd też pochodzi nazwa „cement międzykomórkowy”. W skład tego swoistego rodzaju żelu złożonego z ciasno przylegających do siebie warstw lipidowych wchodzi głównie lipidy, ceramidy i wolne kwasy tłuszczowe. Obumieranie komórek jest związane z gwałtownym wyrzuceniem części treści komórki, co umożliwia ich spłaszczenie i doprowadza do powstania cementu międzykomórkowego, łączącego ze



Ryc. 1. Uproszczony schemat budowy skóry człowieka

sobą poszczególne komórki na kształt ceglano-muru.

W pobliżu warstwy podstawnej naskórka znajdują się komórki barwnikowe – melanocyty, produkujące barwniki. W wyniku przekształceń tyrozyny powstaje czarno-brązowa melanina, a w wyniku przekształceń tyrozyny i cysteiny powstaje żółto-czerwona feomelanina.

CO ZAWIERAJĄ KOSMETYKI

Z punktu widzenia kosmetyki najważniejszą warstwą skóry jest naskórek. Na nim koncentruje się większość zabiegów mających na celu poprawę wyglądu i kondycji cery.

Witaminy. W ostatnich latach wiedza o budowie i czynnościach naskórka uległa ogromnemu poszerzeniu. Poznano mechanizmy kontrolujące proliferację i różnicowanie keratynocytów oraz rolę związków biologicznie czynnych, np. witamin, w tych procesach. Choć witaminy w kosmetykach znajdują swe miejsce od dawna – to dopiero współczesna kosmologia w pełni udowadnia skuteczność ich działania na skórę w preparatach stosowanych zewnętrznie. Do najczęściej stosowanych w kosmetykach witamin zalicza się witaminę A i karotenoidy, witaminę B₅ (kwas D-pantotenowy i D-pantenol), witaminy C i E oraz ich pochodne, a także witaminę F (niezbędne, nienasycone kwasy tłuszczowe i ich estry).

Witamina A i jej pochodne przejawiają szerokie działanie na skórę: od wspomagania leczenia trądziku, poprzez stymulację syntezy białek naskórkowych, aż do leczenia czyrączności i innych patologicznych zmian skórnych. D-pantenol zatrzymuje wodę oraz ma cenne właściwości fizykochemiczne, dzięki którym może być nośnikiem dla innych składników kosmetyków. Ułatwia także nakładanie i rozprowadzanie preparatów kosmetycznych.

Witamina C jest związkiem antyoksydacyjnym, umożliwiającym regenerację utlenionych form witaminy E, reguluje biosyntezę hormonów, kolagenu, przekaźników nerwowych, utrzymuje właściwy poziom jonów miedzi, manganu i cynku. O ile witamina C

W komórkach hodowanych w obecności kwasu foliowego wykazano przyspieszenie naprawy DNA uszkodzonego w wyniku ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe.

jest antyutleniaczem rozpuszczalnym w wodzie, to witamina E – doskonałym antyoksydantem rozpuszczalnym w tłuszczach. Nie przekształca ona się w kolejny rodnik, co sprawia, że zatrzymaniu ulega łańcuch reakcji wolnorodnikowych. Dzięki swej budowie witamina E ma duże powinowactwo do błon komórkowych i jest obecna w miejscu szczególnie narażonym na uszkodzenia oksydacyjne (nienasycone kwasy tłuszczowe).

Na rynku pojawiły się także kosmetyki z całkiem „nowymi” witaminami, np. witaminą K, wykorzystywaną w wypadku problemów związanych z nieprawidłowym krążeniem krwi. Wcześniej jej właściwości przeciwkrwotoczne i zapobiegające zasinieniom wykorzystywano jedynie w medycynie (podawana doustnie lub w iniekcjach w celu przyspieszenia gojenia się wylewów skórnych po urazach i wypadkach, a także po operacjach chirurgicznych i plastycznych). Choć do dzisiaj można usłyszeć wiele głosów wątpiących w skuteczność witaminy K stosowanej w kosmetykach (wchłaniana w minimalnej ilości przez naskórek nie przedostaje się do narządów organizmu, gdzie miałyby się dopiero uaktywniać w wątrobie), to najnowsze doniesienia naukowe, prace kliniczne, a przede wszystkim obserwacje lekarzy i pacjentów jednoznacznie potwierdzają zaskakująco wysoką efektywność kremów z witaminą K.

Kolejną „nową” witaminą znajdującą swe zastosowanie w kosmetykach jest folacyna, czyli kwas foliowy. Jest to witamina z grupy B, określana mianem witaminy Bc, B₉ lub witaminy M, która została wyodrębniona wiele lat temu z liści szpinaku i swą nazwę wywodzi od powszechnego występowania w zielonych liściach (*folium* – liść). Ma ona właściwości

regenerujące komórki skóry, bierze udział w regulacji proliferacji komórek (stymuluje proces odnowy komórek) oraz skutecznie chroni przed fotostarzeniem. W badaniach *in vitro* w komórkach hodowanych w obecności kwasu foliowego wykazano przyspieszenie naprawy DNA uszkodzonego w wyniku ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe.

Naturalny czynnik nawilżający. Obecnie nie traktuje się warstwy zrogowaciałej naskórka jedynie jako bariery mechanicznej. Scharakteryzowano także mechanizmy utrzymujące wodę w naskórku. Działają one dwójako: albo na zasadzie zatrzymywania (wchłaniania) wody, czyli higroskopijności, albo na zasadzie tworzenia barier nieprzenikliwych dla wody i pary wodnej. Zgodnie z mechanizmem higroskopijności działa naturalny czynnik nawilżający (NMF, Natural Moisturizing Factor), którego nazwę badacze wprowadzili (częściowo intuicyjnie) już w latach 60. ubiegłego stulecia. W jego skład wchodzi: aminokwasy, kwas piroglutaminowy, mocznik, kwas moczowy, kreatynina, sole kwasu mlekowego, mikroelementy, fosforany i inne. Ilość NMF maleje w wyniku fizjologicznego starzenia się oraz w przebiegu różnych chorób skóry (tłuszczycy, skłonności alergicznych). Jego uzupełnianie poprzez stosowanie kosmetyków z odtworzonym NMF jest jednym z bardziej wartościowych sposobów nawilżania skóry.

Barierę nieprzenikliwą dla wody stanowią także lipidy naskórka: ceramidy, fosfolipidy i kwasy tłuszczowe tworzące cement międzykomórkowy. W dużej mierze, to on decyduje o tym, jaka objętość wody zostanie „wypuszczona” ze skóry, a także o tym ile szkodliwych substancji z zewnątrz przeniknie do naskórka. Kremy zawierające lipidy cementu międzykomórkowego wpływają na stopień nawilżenia cery, a także decydują o elastyczności i gładkości naskórka.

Podstawowym czynnikiem utrzymującym wodę w skórze właściwej są glikozaminoglikany oraz kolagen. Wykazano, że z wiekiem zaczyna brakować obu substancji, a jedną z przyczyn takiej sytuacji jest obniżenie się

poziomu krążących estrogenów, u kobiet po 40 roku życia. Kosmetyki zawierające fitoestrogeny są doskonale przez skórę przyswajane i stanowią bezpieczny oraz bardzo skuteczny czynnik pozwalający opóźnić pojawianie się niekorzystnych objawów hormonalnego starzenia się skóry.

Stwierdzono, że woda w warstwie zrogowaciałej występuje głównie we wnętrzu martwych komórek (związana przez składniki NMF) oraz w obszarach pozakomórkowych zapewniających właściwe środowisko pracy dla enzymów rozluźniających połączenia między komórkami i biorących udział w przemianach lipidów. Nieocenione możliwości stworzyły tu techniki mikroskopii elektronowej (w tym skaningowej) umożliwiające obserwację morfologii naskórka oraz skóry właściwej.

Liposomy. Bariera naskórkowa jest także barierą nieprzenikalną dla składników kosmetycznych. Przez wiele lat szukano sposobu na przeniesienie w głąb skóry substancji czynnych, które nie są lekami. Ponad 40 lat temu wynaleziono bilamelarne pęcherzyki o ścianach zbudowanych z dwuwarstwy lipidowej otaczającej kropelkę wody. Służyły jako model błon biologicznych, ale bardzo szybko okazało się, że są rewelacyjnymi nośnikami dla substancji czynnych. Nazwano je liposomami. Użycie formuły liposomowej pozwoliło po raz pierwszy wprowadzić wodę i jej roztwory oraz tłuszcze w głąb warstwy zrogowaciałej naskórka. Możliwa stała się precyzyjna regulacja wodno-tłuszczowa skóry i wprowadzenie substancji biologicznie czynnych aż do warstwy skóry właściwej. Liposomy mają zdolność odbudowy błon komórkowych keratynocytów, zapobiegają

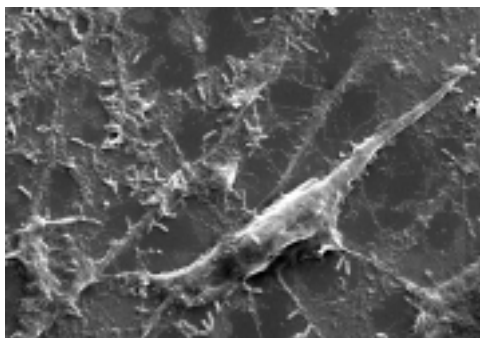
Użycie formuły liposomowej pozwoliło po raz pierwszy wprowadzić wodę i jej roztwory oraz tłuszcze w głąb warstwy zrogowaciałej naskórka.

stwardnieniu warstwy zrogowaciałej, a zawarte w nich substancje wpływają na metabolizm żywych elementów skóry. Małe liposomy są pochłaniane przez komórki na zasadzie endocytozy, większe zlewają się z nią przenosząc swą zawartość do wnętrza komórki (dwuwarstwa lipidowa liposomu staje się fragmentem błony komórkowej). Wiodące firmy kosmetyczne stosują już liposomy „otwierające” się pod wpływem określonego pH lub liposomy, które stopniowo uwalniają zawarte w nich substancje.

IMMUNOLOGIA

Przełomem w badaniach nad fizjologią i patologią skóry było poznanie mechanizmów działania układu immunologicznego skóry. Biorą w nim udział komórki Langerhansa prezentujące antygeny limfocytom T oraz keratynocyty. Udział tych ostatnich w reakcjach immunologicznych w skórze zależy przede wszystkim od zdolności do produkcji wielu cytokin o właściwościach immunoregulacyjnych. Pobudzone keratynocyty produkują interferon α i β oraz czynniki wzrostowe, niekoniecznie korzystne dla prawidłowego wzrostu komórek.

Poznano mechanizmy decydujące o powstaniu podrażnień skóry i alergii na składniki obecne w kosmetykach. Uważa się, że wielokrotna ekspozycja na słabe związki drażniące prowadzi do wzrostu wrażliwości skóry, indukuje syntezę cytokin prozapalnych i prowadzi do wystąpienia egzemy.



Komórka skóry zainfekowana bakteriami. Zdjęcie z mikroskopu skaningowego.

Fot. Centrum Naukowo-Badawcze Dr Irena Eris

Kontakt naskórka z alergenami i czynnikami drażniącymi może doprowadzić do zmian w skórze właściwej – ich siła zależy od natury i stężenia konkretnej substancji.

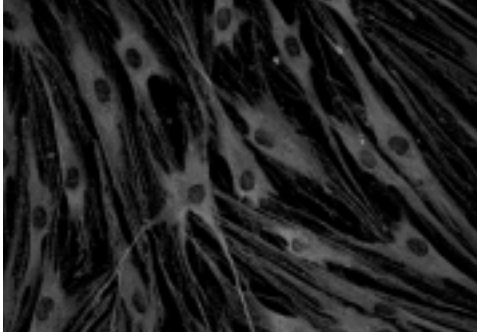
BADANIA SKUTECZNOŚCI KOSMETYKÓW

Na polskim rynku istnieje kilkaset firm kosmetycznych. Każda z nich oferuje gamę produktów, dbając o pielęgnację naszej cery i skóry całego ciała. Reklamy obiecują błyskawiczną poprawę kondycji skóry i redukcję zmarszczek w ciągu kilku dni po stosowaniu kosmetyku. Przeciętnemu użytkownikowi trudno ocenić rzetelność prezentowanych materiałów. Wychodząc naprzeciw potrzebom konsumenta i zgodnie z nowymi przepisami Unii Europejskiej, producenci kosmetyków zobowiązani są jednak do rzetelnego wykonania badań skuteczności działania preparatu.

Krok pierwszy – *in vitro*. Istotną rolę w „kształtowaniu” kosmetyku odgrywają badania *in vitro*. Niestety, są wciąż niedoceniane, a nawet podważane przez niektórych przedstawicieli środowiska branżowego i traktowane z „przymrużeniem oka” przez placówki naukowe. Wydaje się, że to negatywne nastawienie wynika z niezrozumienia ich istoty.

Badania surowców kosmetycznych prowadzi się na modelach komórkowych (pozaustrojowo). Jest to pierwsza faza testów oceniająca przydatność składnika do zastosowania w kosmetykach. Hodowle komórek rosnących warstwowo lub w zawiesinie (najprostszy model) pozwalają na obserwowanie w warunkach laboratoryjnych zachowania komórek skóry pod wpływem substancji aktywnych lub ich kompleksów. Testy obejmują badania żywotności komórek (cytotoksyczności), ich zdolności podziałowych, syntezy białek (czynników wzrostowych), syntezy ATP oraz aktywności różnego rodzaju białek (nie tylko enzymatycznych) zaangażowanych w procesy starzenia się skóry.

Izolowane fibroblasty, melanocyty oraz keratynocyty służą do badania poziomu uszkodzeń struktur komórkowych (w tym DNA) pod wpływem UV lub stresu oksydacyjnego. Bardzo często określa się odsetek



Komórki skóry właściwej (fibroblasty) hodowane w obecności badanego składnika kosmetycznego. Zdjęcie z mikroskopu konfokalnego.

Fot. Centrum Naukowo-Badawcze Dr Irena Eris

komórek apoptotycznych hodowanych w obecności różnych substancji kosmetycznych. Stosuje się przy tym takie techniki biologii molekularnej, jak test kometkowy, metoda tunelowa, PARP i inne.

Modele skóry. Bardziej skomplikowane doświadczenia wykonuje się na modelach skóry. W analizie histologicznej „sztuczna skóra”, poza brakiem gruczołów, morfologicznie nie różni się od skóry pobranej od pacjenta. Dysponujemy zatem martwą warstwą zrogowaciałą, żywą warstwą naskórka zawierającą melanocyty oraz komórki Langerhansa odpowiedzialne za reakcje immunologiczne, a także warstwą skóry właściwej wypełnioną fibroblastami. Całość jest umiejscowiona na podłożu kolagenowym. Modele tego typu wykorzystuje się zarówno w badaniu kosmetyków, jak i w badaniu chorób (np. *Xeroderma pigmentosum*, co może pomóc osobom ze skórą wrażliwą na światło).

Do testów można także wykorzystywać hodowle odtworzonego naskórka. Składa się on z takich samych warstw jak naskórek człowieka, a więc zawiera warstwę podstawną, kolczystą, ziarnistą i rogową. Poza tym ma zdolność do ekspresji większości markerów procesu różnicowania oraz markerów typowych dla połączeń nabłonka ze skórą właściwą. Keratynocyty w sztuczным naskórku syntetyzują wystarczającą ilość

ceramidów pełniących zasadniczą rolę w ochronie skóry przed utratą wody. Hodowle nabłonków służą także do badania chorób zakaźnych, w tym także dermatologicznych.

Modele „sztucznej” skóry są obecnie niezastąpione w badaniu przenikalności substancji aktywnych w głąb skóry. Pyta o to niemal każdy użytkownik kosmetyków. Coraz częściej składniki aktywne zamyka się w sfery opatrzone markerem, za pomocą którego można sprawdzić, jaka jest głębokość penetracji substancji i do jakiej części komórki przeniknęła. Jest to niezmiernie ważne wtedy, gdy mówimy o składniku mającym wspomóc systemy naprawcze kwasów nukleinowych – musi on zatem dotrzeć do jądra komórkowego, będącego głównym zasobem informacji genetycznej.

Badania DNA. Dla bliższego zobrazowania testów prowadzonych zarówno na izolowanych komórkach, jak i układach komórek tworzących ekwiwalenty skóry, można zaprezentować wyniki doświadczeń oceniających szybkość naprawy DNA w komórkach poddanych działaniu promieniowania UV. Uszkadza ono DNA w dwojaki sposób: bezpośrednio modyfikując nie kwas nukleinowy oraz poprzez wytwarzanie reaktywnych form tlenu. W wyniku obydwu procesów tworzą się uszkodzenia nici niebędące jej pęknię-



Ryc. Robert Mirowski

ciami (co zwykle prowadzi do śmierci komórki), polegające przede wszystkim na zmianie struktury zasad budujących DNA.

Przydatnym narzędziem do badania opisywanych uszkodzeń DNA na poziomie komórkowym jest tzw. test kometkowy. Metodą tą można wykryć uszkodzenia oksydacyjne, uszkodzenia wywołane UV, wiązania krzyżowe (DNA-DNA i DNA-białko) oraz pojedynczo- i podwójnoniciowe pęknięcia DNA. Do oceny uszkodzeń stosuje się pomiar wielkości migracji DNA, czyli tzw. długość kometki – im jest dłuższa, tym więcej DNA uległo degradacji.

Testy przeprowadzone zarówno na komórkach z warstwy skóry właściwej, jak i na komórkach naskórka, do których fizjologicznie dociera największa dawka UV, wykazały, że surowce kosmetyczne regulują szybkość naprawy uszkodzonego DNA. I nie jest to działanie substancji jako filtra słonecznego, ale substancji, która wpływa na metabolizm komórki.

Badania kosmetyków z wykorzystaniem modeli komórkowych są prowadzone od lat przez światowe koncerny kosmetyczne. Od niedawna dzieje się tak również w Polsce. Choć ich koszty są wysokie, warto je ponosić. Testy na komórkach stały się bowiem testami alternatywnymi zastępującymi badania na zwierzętach.

Testy *in vitro* to dopiero wstępny etap badań preparatu kosmetycznego. Jest to ważny etap, ale sam w sobie nie jest jeszcze udokumentowanym działaniem gotowego preparatu. Po stwierdzeniu, czy przebadane surowce kosmetyczne nie mają działania toksycznego na komórki i określeniu ich wpływu na zrekonstruowaną skórę (często poddaną działaniu czynnika stresowego np. UV, wolnych rodników, hipertermii) można domniemywać, że podobnie będą działały w kosmetyku. Po zakwalifikowaniu substancji czynnych jako surowców kosmetycznych przechodzi się do etapu prac technologicznych, a przygotowane preparaty kosmetyczne w odpowiednio zakodowanych opakowaniach zastępczych, podlegają testom *in vivo*.

Testy takie wykonuje się u ludzi dobrowolnie zgłaszających się do udziału w badaniu. Określane są mianem „podwójnie ślepej próby”, w których ani osoba poddająca się testom, ani ta, która prowadzi testy, nie wie, czy oceniany preparat jest formą *placebo* (bazą kosmetyczną pozbawioną składników aktywnych), czy też właściwym preparatem zawierającym składniki aktywne. Badanie, wyglądające podobnie jak testy kliniczne, stosowane w medycynie, powinno udowodnić, że korzystniej na skórę działa preparat zawierający składniki aktywne niż preparat ich pozbawiony.

Ocena kosmetyku jest dwustronna: ochotnik subiektywnie ocenia właściwości preparatu (konsystencję, zapach, działanie), a osoba prowadząca badanie (przez cały czas trwania testu ta sama) wykonuje obiektywne (aparaturowe) pomiary stanu skóry (np. mierzy stopień nawilżenia, natłuszczenia, elastyczności i gładkości skóry, szczelność bariery naskórkowej, intensywność zmian barwnikowych i rumieniowych). Rzetelni producenci (niestety tylko niektórzy) niezależnie od badań przeprowadzonych we własnym laboratorium wykonują testy *in vivo* także w niezależnej placówce badawczej. Dopiero po potwierdzeniu przez niezależne laboratorium właściwości preparatu kosmetycznego uznaje się, że działanie kosmetyku zostało udowodnione.

Kosmetyki odgrywają dużą rolę w pracy dermatologów. Poza czysto estetycznymi wskazaniem wykorzystuje się je w profilaktyce niektórych chorób skóry i bardzo często stosuje się je u osób z różnymi dolegliwościami. Z powodu coraz wyższych wymagań odbiorców konieczne stają się dokładniejsze badania kosmetyków poprzedzające ich wejście na rynek. □

dr RENATA DĘBOWSKA

kierownik Pracowni Badań In Vitro Centrum Naukowo-Badawczego Dr Irena Eris. Studia magisterskie i doktoranckie ukończyła na Wydziale Biologii UW. Jest autorką publikacji popularno-naukowych i naukowych.

