

Rola metaloproteinaz w procesie starzenia się skóry

Bożena Tyszczyk

Centrum Naukowo-Badawcze Dr Irena Eris

Dr Irena Eris

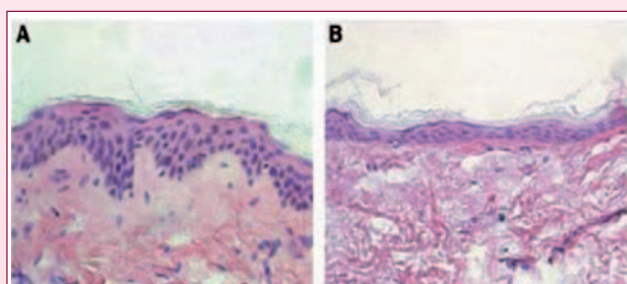
Starzenie się skóry jest procesem nieuchronnym, dotyczącym każdego organizmu żywego. Przyczyny starzenia można podzielić na wewnątrz- i zewnątrzpochodne. Do wewnątrzpochodnych zalicza się czynniki chronologiczne i genetyczne, natomiast do zewnątrzpochodnych czynniki środowiskowe. Tego typu starzenie to przede wszystkim fotostarzenie, związane z ekspozycją na promieniowanie słoneczne.

Proces starzenia wewnątrzpochodnego jest procesem od nas niezależnym. Możemy jedynie nieco opóźnić jego negatywne skutki prowadząc higieniczny i zdrowy tryb życia (prawidłowo odżywiać się, uprawiać sport) oraz właściwie pielęgnować skórę.

Zupełnie inaczej jest w przypadku starzenia zewnątrzpochodnego. Proces ten rozpoczyna się wcześniej niż starzenie wewnątrzpochodne i jest bardziej widoczny u osób narażonych na negatywny wpływ środowiska zewnętrznego (np. u osób pracujących na świeżym powietrzu), u których objawy starzenia widać najszybciej (1).

Starzenie wewnątrzpochodne

W wyniku starzenia wewnątrzpochodnego w skórze człowieka zachodzą procesy, których mechanizm nie jest do końca poznany. Wpływa na nie szereg czynników genetycznych, hormonalnych oraz środowiskowych, które powodują zmiany we wszystkich warstwach skóry (naskórku, skórze właściwej oraz tkance podskórnej) (Rys.1).



Rys. 1. Przekrój przez skórę osoby w wieku 25 lat (A) oraz 69 lat (B) obrazujący zmiany histologiczne w starzejącej się skórze (2).

Zmiany zachodzące w naskórku to:

- zanik warstwy kolczystej i ziarnistej oraz ścięczenie warstwy komórek podstawnych,
- spadek ilości komórek Langerhansa (skutkuje zaburzeniami odporności),
- zmniejszenie ilości melanocytów i tworzenie się ich skupisk (zaburzenia pigmentacji),
- redukcja ilości gruczołów potowych (prowadzi do wysuszenia skóry),
- negatywne zmiany w obrębie lipidów naskórka oraz składników NMF (prowadzą do nasilenia suchości skóry, a także jej odwodnienia),
- zwiększona wrażliwość na działanie czynników zewnętrznych (np. mydeł, detergentów, promieniowania UV),
- spadek zdolności do hamowania przelnaskórkowej utraty wody (TEWL),
- zmniejszenie syntezy witaminy D3,
- spłaszczenie granicy między naskórkiem a skórą właściwą,
- zanik filamentów i włókien zakotwiczących warstwę podstawną.

Zmiany w obrębie skóry właściwej obejmują natomiast:

- zaburzenia w budowie (degeneracja oraz wzrost sztywności włókien podporowych, a także spadek gęstości ich ułożenia),
- zmniejszenie ilości włókien kolagenu (głównie typu III, w mniejszym stopniu typu I),
- zmniejszenie ilości włókien elastycznych,
- zmniejszenie metabolicznej aktywności fibroblastów,
- zmiany w obrębie macierzy zewnątrzkomórkowej (zmniejszenie ilości proteoglikanów, glikozaminoglikanów- w tym kwasu hialuronowego),
- zmniejszenie ilości mastocytów,
- redukcja ilości naczyń włosowatych i zaburzenia mikrokrążenia,
- zmniejszenie gęstości włosów oraz spadek ilości barwnika we włosach (1).

Na proces starzenia ogromny wpływ ma także gospodarka hormonalna. Po 50 roku życia obniżeniu ulega funkcja gruczołów wydzielania wewnętrznego, co przejawia się w formie menopauzy, andropauzy, adrenopauzy lub somatopauzy. Uzupełnianie niedoborów hormonalnych, znacznie poprawia jakość życia oraz może opóźnić starzenie się organizmu i skóry. A znajomość zmian zachodzących wewnątrz organizmu jest bardzo ważna w zrozumieniu zmian powstających w obrębie skóry (3).

Starzenie zewnętrzne

Starzenie zewnętrzne przejawia się głównie uszkodzeniami włókien elastycznych, rogowaceniem słonecznym oraz nowotworami złośliwymi skóry. Zmiany te wywołane są przez czynniki zewnętrzne, a przede wszystkim przez promieniowanie słoneczne.

Zmiany powstające w wyniku działania na skórę promieniowania UVB widoczne są głównie w obrębie naskórka. Natomiast promieniowanie UVA swój negatywny wpływ wywiera przede wszystkim na skórę właściwą i wywołuje zmiany odległe w czasie o nieodwracalnych skutkach. W ciągu całego życia, niezależnie od pory roku i o każdej porze dnia, jesteśmy narażeni na jego negatywny wpływ (1).

Fotostarzenie skóry jest zatem wynikiem nadmiernej i przewlekłej ekspozycji na promieniowanie słoneczne (zwłaszcza UVA). Duże znaczenie ma ilość promieniowania, skumulowana w czasie całego życia, a także fototyp skóry (efekty fotostarzenia są znacznie bardziej widoczne u osób o fototypie I, niż u osób o wyższym fototypie np. IV).

Objawy posłonecznego starzenia się skóry to m.in. szorstkość naskórka, jego łuszczenie się, uszkodzenia melanocytów czy przerost gruczołów łojowych. W skórze właściwej zachodzą zmiany polegające na pogrubieniu oraz skręcaniu się włókien sprężystych. Degradacja włókien kolagenowych i elastycznych wywołana jest działaniem enzymów elastazy i kolagenazy. Fragmentacja i rozpad włókien kolagenu może być także wynikiem procesu zapalnego wywołanego promieniowaniem UV. Odbyna się to za przyczyną systemu matriksowych metaloproteinaz (ang. matrix metalloproteinases- MMPs). Zmniejszenie ilości kolagenu prowadzi do utraty jędrności skóry oraz powstania charakterystycznych głębokich zmarszczek i bruzd (1).

Promieniowanie UV, poprzez pobudzenie stresu oksydacyjnego oraz indukcję receptorów dla czynników wzrostu i cytokin, zwiększa ekspresję AP-1 (ang. activating protein 1), co stymuluje organizm do przebudowy struktury tkanki łącznej. Rozpoczęcie tego procesu odbywa się w wyniku degeneracji białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Najważniejszym efektem stymulacji AP-1, z punktu widzenia procesu starzenia się skóry, jest indukcja aktywności metaloproteinaz (4).

Metaloproteinazy

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinases- MMPs), zwane również metaloproteinazami, matriksynami lub kolagenazami, tworzą grupę liczącą 23 enzymy o właściwościach proteolitycznych. Są one endopeptydazami, zawierającymi w swojej budowie atom cynku. Cynk pełni w nich rolę katalityczną. Zazwyczaj we wszystkich metaloproteinazach występują powtarzające się wspólne fragmenty budowy zwane domenami. Każda domena zbudowana jest z różnej liczby aminokwasów i zawiera odmienne

jony, które determinują jej stabilność oraz aktywność enzymatyczną (8). Niektóre z domen np. pro-peptydowa, katalityczna oraz peptyd sygnałowy są wspólne dla wszystkich MMPs (6).

Metaloproteinazy wchodzą w skład wszystkich tkanek oraz narządów człowieka (5). Występują w formie rozpuszczalnej lub związanej z błoną komórkową. MMPs są aktywne w obojętnym lub lekko zasadowym pH i w obecności jonów wapnia. Ekspresja i produkcja metaloproteinaz stwierdzana jest niemal we wszystkich komórkach: fibroblastach, keratynocytach, makrofagach, komórkach śródbłonna, komórkach dendrytycznych Langerhansa, neuronach, komórkach mikrogleju, miocytach, monocytach, limfocytach T, leukocytach, granulocytach obojętnochłonnych oraz komórkach nowotworowych (6).

Podział metaloproteinaz

W zależności od substratów, na które działają metaloproteinazy, można wyodrębnić sześć ich grup:

- kolagenazy (MMP-1, 8 i 13), które rozkładają kolagen typu I, II, III, VI i X,
- żelatynazy (MMP-2, zwana żelatynazą A oraz MMP-9, czyli żelatynaza B), które oddziałują na żelatynę i kolagen IV,
- stromieliny/ stromielizyny (MMP-3, 10 i 11), których substratami są kolagen i fibronektyna,
- matrylizyny (MMP-7 oraz MMP-26), rozkładające fibronektynę, kolagen IV i fibrynogen,
- metaloproteinazy typu przezbłonowego (membranę typu MMPs- MT- MMPs), do których należą MMP-14, 15, 16, 17, 24 i 25, aktywujące inne metaloproteinazy,
- grupa pozostałych metaloproteinaz, obejmująca MMP-12, 19, 20, 23, 27 i 28" (6).

Rola metaloproteinaz

Metaloproteinazy odgrywają bardzo istotną rolę zarówno w procesach fizjologicznych, jak również patologicznych ustroju. Biorą one udział np. w procesie gojenia się ran, powstawania blizn, w przebudowie chrząstek i kości. Uczestniczą ponadto w procesach angiogenezy oraz apoptozy.

Metaloproteinazy zaangażowane są także w procesy patologiczne: choroby nowotworowe, autoimmunologiczne czy stany zapalne stawów (7). Biorą udział w etiologii szeregu chorób skóry, m.in. łuszczycy, liszaja płaskiego, trądziku różowatego, chorób pęcherzowych, twardziny i owrzodzeń podudzi. Ostatnimi doniesieniami są informacje o udziale metaloproteinaz w etiopatogenezie trądziku pospolitego, a także w procesach posłonecznego starzenia się skóry (6).

Mechanizm działania metaloproteinaz

Metaloproteinazy są syntezowane oraz wydzielane w formie nieaktywnej, jako proenzymy (proMMP). Ich aktywacja zachodzi w procesie zewnątrzkomórkowym w wyniku odszczepienia cysteiny. Powoduje to zmiany w strukturze przestrzennej cząsteczki polegające na odsłonięciu aktywnego centrum, zawierającego atom cynku.

Głównym obszarem działania metaloproteinaz jest hydroliza składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. extracellular matrix- ECM), przede wszystkim kolagenu, a także usuwanie ECM w procesie resorpcji i przebudowy

tkanek. MMPs indukują rozkład elementów kolagenowych ECM (fibronektyny, lamininy, witronektyny, agrekanu, entacyny, tenascyny) i niekolagenowych (czynniki wzrostu, markery powierzchniowe komórek). MMP-2 i -9 (należące do grupy żelatynaz) rozkładają kolagen IV. Rozpad błony podstawnej naczyń powodowany przez te enzymy przebiega na tej samej drodze. Na skutek zmian w budowie macierzy zewnątrzkomórkowej zostaje ułatwiony przepływ komórek, zarówno tych prawidłowych, jak i nowotworowych (6).

Aktywność enzymatyczna MMP podlega wielokierunkowej regulacji, m.in. na etapie transkrypcji genów przy udziale różnych czynników biologicznych: hormonów, czynników wzrostu, cytokin, interakcji między komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową, a także czynników fizycznych (np. promieniowania UV). Kontrola aktywności MMP zachodzi także na etapie aktywacji formy proenzymu.

Wydzielanie metaloproteinaz jest pobudzane przez śródbłonkowy czynnik wzrostu (ang. vascular endothelial growth factor- VEGF), czynnik martwicy nowotworów α (ang. tumor necrosis factor alpha- TNF- α), interleukinę 1 (IL-1), prostanglandyny E2, D2, F2- α oraz procesy fagocytozy. Komórki nowotworowe produkują także czynnik indukujący EMMPRIN (ang. extracellular matrix metalloproteinase inducer), który pobudza fibroblasty do syntezy metaloproteinaz.

Nadmiernemu pobudzeniu ekspresji MMP zapobiegają ich naturalne tkankowe inhibitory TIMPs (ang. tissue inhibitor of matrix metalloproteinases) oraz α 2- makroglobulina (produkowana w wątrobie proteina o dużej masie cząsteczkowej), która pełni rolę inhibitora wszystkich metaloproteinaz. Aktywność proteolityczna metaloproteinaz regulowana jest poprzez stosunek poziomu ich ekspresji do poziomu czynników hamujących.

Znane są cztery klasy inhibitorów metaloproteinaz, występujące w przestrzeni zewnątrzkomórkowej oraz płynach ustrojowych (TIMPs-1, 2, 3 i 4). W tkankach najczęściej występuje TIMP-1 i -2. Hamowanie proteolitycznej aktywności MMP zachodzi poprzez tworzenie kompleksów między aktywnymi formami metaloproteinaz lub proenzymów a ich tkankowymi inhibitorami (6).

Ekspresja metaloproteinaz indukowana przez UV i fotostarzenie

W literaturze dostępne są wyniki badań ekspresji genów dla każdej z MMP w warunkach bez naświetlania (kontrola) i po działaniu promieniowania UV. W warunkach bez naświetlania transkrypcja MMP8, -10, -12, -20 i -26 nie została wykryta, zaś transkrypcja pozostałych MMP była na granicy detekcji

(około 1000- krotnie niższa od kontroli). Natomiast ekspresja mRNA dla MMP-14 była około 35-razy wyższa od innych wykrytych MMP.

Pośród 19 MMPs obecnych w ludzkiej skórze tylko trzy były znacząco indukowane w odpowiedzi na promieniowanie UV: MMP-1, MMP-3 i MMP-9. Badania dowiodły także, że keratynocyty są głównym komórkowym źródłem MMPs (w tym także MMP-1, MMP-3 i MMP-9) w skórze poddanej działaniu UV w warunkach *in vivo*.

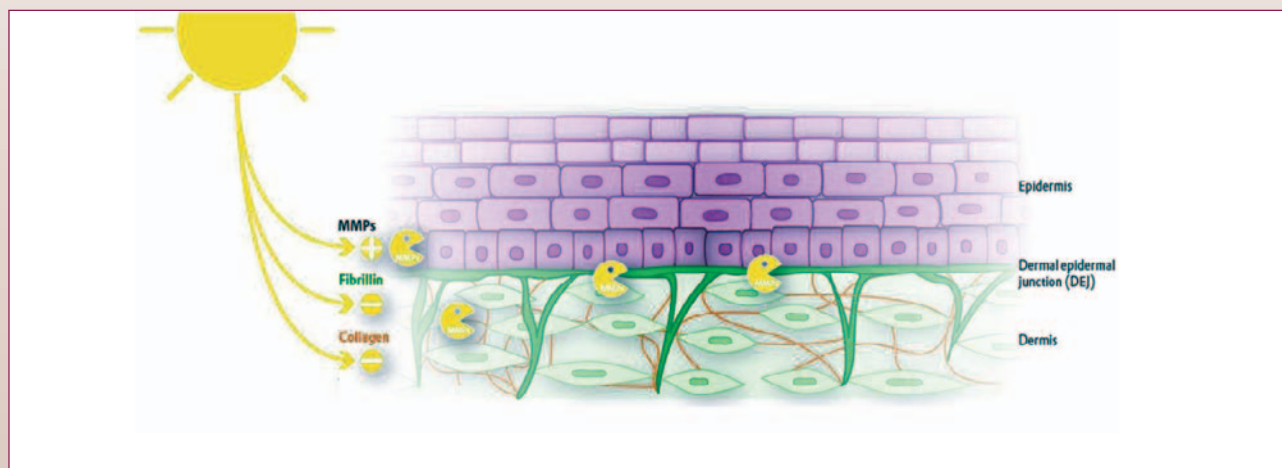
Jednak badania przeprowadzone na hodowlach komórkowych oraz modelu ludzkiej skóry (w warunkach *in vitro*) wykazały, że głównym źródłem MMPs, które powstają w odpowiedzi na UV, są fibroblasty pochodzące ze skóry właściwej. Różnice w wynikach eksperymentów prowadzonych w warunkach *in vivo* i *in vitro* nie są jasne. Istnieje możliwość, że komórki skóry właściwej mogą odgrywać istotną rolę w procesie wytwarzania MMP w naskórku poprzez pośredni mechanizm, polegający na uwalnianiu czynników wzrostu i cytokin, które wpływają na produkcję MMP w keratynocytach (9).

Effekty fotostarzenia, czyli zniszczenia w obrębie włókien kolagenu i elastyny ECM, są przyczyną występowania zmarszczek, a także wiotkości i utraty jędrności skóry. Atrofia włókien kolagenu jest efektem wzrostu ekspresji kolagenaz (MMP-1) i żelatynaz (MMP-2), natomiast włókna elastyny są niszczone przez elastazy, MMP-2 i MMP-9 (10).

Przykłady substancji aktywnych stosowanych w kosmetologii do hamowania aktywności metaloproteinaz

Na rynku stale pojawiają się składniki aktywne, które są stosowane w produktach typu anti-ageing w celu zapobiegania oraz niwelowania efektów starzenia zewnątrzpochodnego i jego szczególnej formy jaką jest fotostarzenie.

Jednym z takich surowców jest ekstrakt pozyskiwany z dyni zwyczajnej (łac. *Cucurbita pepo*). Surowiec ten stanowi frakcja białkowa o wysokiej masie cząsteczkowej, która zabezpiecza włókna elastyny i kolagenu. Hamuje on syntezę enzymu katepsyny L i metaloproteinazy MMP-1 odpowiednio o 86% i 99% (w warunkach *in vitro*). Zmniejsza także aktywność metaloproteinazy MMP-2, enzymu związanego z degradacją zarówno włókien kolagenu, jak i elastyny. Ponadto ekstrakt z dyni sprzyja prawidłowej organizacji sieci włókien elastycznych i kolagenowych poprzez zwiększanie syntezy kolagenu I (poprawa o +62% w warunkach *in vitro*) oraz poprzez pobudzanie ekspresji cząsteczek tworzących macierz zewnątrzkomórkową (11).



Rys. 3. Schemat działania inhibitora metaloproteinaz (wg Evonic Industries)



Innym przykładem składnika kosmetycznego o charakterze TIMPs jest ekstrakt z brunatnicy *Laminaria ochroleuca* zwanej „złotą algą”. Został stworzony z myślą o niwelowaniu efektów starzenia się skóry. Zawiera w swoim składzie takie związki, jak pochodne kwasu α -liponowego oraz witaminy. Dzięki wysokiemu stężeniu fosfatydylocholino sprzyja odbudowie bariery lipidowej skóry.

Badanie techniką ELISA (*in vitro*, na hodowli ludzkich fibroblastów) wykazały spadek ekspresji MMP-1 w obecności ekstraktu z *Laminaria ochroleuca* w stężeniu 0,5% i 1% o odpowiednio -25% i -31%. Surowiec chronił włókna macierzy i połączenia DEJ (połączenie naskórek- skóra właściwa, ang. dermal-epidermal junction) przed degradacją poprzez zmniejszenie syntezy metaloproteinaz (MMP-2, 3 i 9), (12).

Ekstrakt z *Laminaria ochroleuca* neutralizował konsekwencje stresu wywołanego promieniowaniem UVB poprzez zmniejszenie uwalniania TNF- α , COX, LTB4 oraz interleukin: IL1, IL6, IL10 (*in vitro*, na hodowli ludzkich keratynocytów). Wyniki testu kometkowego wykazały działanie naprawcze ekstraktu na zniszczenia DNA wywołane promieniowaniem UV. Badania potwierdziły też wpływ tego surowca na pobudzenie syntezy kolagenu i GAG (13).

Ponadto działanie o charakterze TIMPs wykazują:

- peptydy: Tripeptyd-2, który hamujący aktywność elastazy i MMP-1; Myristoyl Tetrapeptide-20, hamujący MMP-1 oraz Acetyl Hexapeptide-20 – hamujący aktywność MMP-1, 2 i 9,
- ekstrakt ze skórki owoców liczi hamujący aktywność MMP-1,
- phenol, 4-[1E, 3S)-3-ethenyl-3, 7-dimethyl-1, 5-octadienyl, który wpływa hamująco na elastazę,
- ekstrakt z liści *Rubus Fruticosus* hamujący MMP-1, 2 i 9 oraz elastazę.

Podsumowanie

Metaloproteinazy matrycowe występują we wszystkich narządach organizmu człowieka. Zaangażowane są w szereg procesów, jednak zasadniczym obszarem ich działania jest degradacja struktur białkowych tkanki łącznej. W procesie starzenia się skóry jednym z głównych czynników prowadzących do pobudzania aktywności metaloproteinaz jest promieniowanie UV. Efektami działania MMPs są zmiany w strukturze macierzy skórnej, zmarszczki, spadek elastyczności oraz jędrności skóry, a także występowanie trwałego lub/i przejściowego rumienia oraz teleangiektazji. Aby uniknąć lub zmniejszyć intensywność tych zmian współczesna kosmetologia ciągle poszukuje skutecznych substancji czynnych, które nie tylko będą hamowały ekspresję metaloproteinaz, ale także obniżały ich aktywność oraz wpływały na poprawę kondycji starzejącej się skóry.

Literatura

1. B. Raszeja- Kotelba, M. Wilk, K. Zakrzewska, Z. Adamski. Dermatologia dla kosmetologów. Poznań : Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 2008. (73- 74).
2. O. Holtkötter (2005) Unveiling the molecular basis of intrinsic skin ageing. International Journal of Cosmetic Science, 27, 263-269.
3. M. Noszczyk. Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska. Warszawa : Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2010.
4. R. Galus, Ł. Zandecki, M. Antiszko, K. Borowska, S. Zabielski. Fotostarzenie się skóry. Pol. Merk. Lek. XXII, 2007, 580.
5. R.P. Somerville, S.A. Oblander, S.S. Apte. Matrix metalloproteinases: old dogs with new tricks. Genome Biology. 4(6), 2003, 216.
6. A. Wawrzycka- Kaflik, M. Pełka, G. Broniarczyk- Dyła. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowe inhibitory- charakterystyka biochemiczna i znaczenie kliniczne. Dermatologia Estetyczna. 9(4), 2007, (209-217).
7. I. Śliwowska, Z. Kopczyński. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej- charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczania u chorych na raka piersi. Współczesna Onkologia. 9(8), 2005, (327-335).
8. H. Nagase, J.F. Woessner. Matrix metalloproteinases. Minireview. The Journal of Biological Chemistry. 273(31), 1999, (21491-21494).
9. T. Quan, Z. Qin, W. Xia, Y. Shao, J. Voorhees, G. Fisher. Matrix- degrading Metalloproteinases in Photoageing. J. Investig. Dermatol. Symp. proc. 2009, Tom 14(1), (20-24).
10. N. Philips, S. Auler, R. Hugo, S. Gonzalez. Beneficial Regulation of Matrix Metalloproteinases for Skin Health. Enzyme Research. 2011, 427285.
11. Silab®. Elastonyl® Anti-striae ctive ingredient preserves the elastic capital of the skin. 2004.
12. BiotechMarine®. Antileukine®6- B.P.F.(Biological protecting Factor). 2005.
13. N. Meikideche, D. Saboureaux, J. Messadek, Antileukine 6 a new weapon against ageing. Personal Care. January 2002 (63-73).

Tekst przygotowano na podstawie pracy dyplomowej wykonanej pod kierunkiem dr inż. Katarzyny Pytkowskiej z Wyższej Szkoły Zawodowej Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia w Warszawie w ramach studiów podyplomowych „Stosowanie, wytwarzanie i ocena wyrobów kosmetycznych”.

