

Wpływ melanogenezy na powstawanie przebarwień

The effect of melanogenesis on the formation of hyperpigmentation

WSTĘP

Przebarwienia skórne stanowią często spotykany defekt estetyczny. Wśród przyczyn powstawania przebarwień, obok nadmiernej ekspozycji na światło UV, wyróżnia się m.in. przesuszanie skóry, zmiany hormonalne czy działanie niektórych leków [1]. Wszystkie te czynniki prowadzą do wzmożonej produkcji barwników z grupy melanin. Zjawisko to związane jest z podwyższoną aktywnością tyrozynazy, czyli kluczowego enzymu dla tego procesu biochemicznego. Hamowanie tego enzymu jest celem działania wielu kosmetyków przeznaczonych do profilaktyki lub redukcji przebarwień skórnych. Kosmetyki o takich właściwościach zawierają różne składniki aktywne, w zależności od mechanizmu hamowania tyrozynazy, np. kwas kojowy, kwas szikimowy czy arbutynę [1].

Skóra człowieka jest wyposażona w mechanizm naturalnej fotochrony, jakim jest melanogeneza, dzięki czemu negatywne efekty oddziaływania np. nadmiernego nasłonecznienia zostają złagodzone. Proces melanogenezy mogą jednak w znacznym stopniu modyfikować substancje przyjmowane w postaci doustnej lub aplikowane na skórę, powodując zarówno pojawienie się przebarwień jak również ich rozjaśnienie oraz regulację tego procesu [1].

Najczęstszą przyczyną powstawania przebarwień, prawdopodobnie nie jest wyłącznie nadmierna ekspozycja na promieniowanie UV, ale towarzysząca temu dysfunkcja regulacji gradientu pH bariery naskórkowej. Gradient ten zmienia się podczas proliferacji komórek naskórka, na którą wpływ ma przyjmowanie lub aktywność substancji mogących wywołać odczyn fototoksyczny lub fotoalergiczny, wiek, płeć oraz niewłaściwa pielęgnacja cery [2]. Istotnym elementem, wydaje się być również wydolność bariery naskórkowej oraz aplikowane na skórę produkty kosmetyczne, które mogą bezpośrednio wpływać na powstawanie miejscowych zmian skórnych [3].

WOLNE RODNIKI I STRES OKSYDACYJNY

Melanogeneza jest procesem związanym z ochroną komórek przed stresem oksydacyjnym, spowodowanym przez wolne rodniki (WR). Jednym z czynników zewnętrznych, odpowiedzialnych za powstawanie wolnych rodników oraz stres oksydacyjny jest promieniowanie UV. To jedno z nielicznych źródeł WR, które można kontrolować [4, 5].

Ewa Kilian-Pięta¹
Mateusz Hoppe²

¹ Centrum Dermatologii
Symbiosis

ul. Piękna 4
60-591 Poznań

M: +48 502 189 324

E: ewa.kilian@symbiosis.pl

² BBH Biotech Polska sp. z o.o.

ul. Rubież 46H
61-612 Poznań

M: +48 666 026 256

E: mateusz.hoppe@

bbhbiotech.com

» 419

STRESZCZENIE

Za jedną z głównych przyczyn powstania przebarwień wymienia się nadmierną ekspozycję na promieniowanie ultrafioletowe. Problem ten jest jednak bardziej złożony i związany ze skomplikowanymi reakcjami biochemicznymi w komórkach naskórka.

Celem pracy było przedstawienie czynników oraz substancji mających wpływ na melanogenezę.

Nieodpowiednia profilaktyka przebarwień może wpłynąć negatywnie na stan skóry w dłuższej perspektywie czasowej. Z kolei odpowiednie połączenie działania hamującego tyrozynazę, może w znaczący sposób poprawić stan skóry i stanowić istotny element skutecznej pielęgnacji domowej.

Słowa kluczowe: melanogeneza, tyrozynaza, wolne rodniki, stres oksydacyjny, melanina, kwas kojowy, arbutyna, przebarwienia, hiperpigmentacja

ABSTRACT

One of the main causes of hyperpigmentation is excessive exposure to ultraviolet radiation. However, the problem is very complex and is associated with complex biochemical reactions in epidermal cells.

The aim of the study was to present the factors and substances that affect melanogenesis.

Inadequate prevention of discoloration may have a negative effect on skin condition in the long term. In turn, the right combination of tyrosinase inhibiting activity can significantly improve skin condition and be an important element in effective home care.

Keywords: melanogenesis, tyrosinase, free radicals, oxidative stress, melanin, kojic acid, arbutin, hyperpigmentation

otrzymano / received

13.04.2019

poprawiono / corrected

29.04.2019

zaakceptowano / accepted

15.05.2019

Teoria odpowiedzialności za procesy starzenia się skóry opiera się na wolnych rodnikach. Ze względu na wolny elektron uczestniczą one w losowych reakcjach utleniania w ludzkich komórkach, uszkadzając białka, lipidy, a nawet DNA. Wspomniana wcześniej hipoteza zakłada, że proces starzenia się, czyli utraty zdolności do prawidłowego funkcjonowania tkanek jest wzmacniany i przyspieszany w wyniku uszkodzeń makromolekuł i komórek. Ostatecznie prowadzi to do uszkodzeń enzymów i białek, co może przekładać się na zanik zdolności do namnażania się komórek, wielu nieprawidłowości w ich normalnym funkcjonowaniu, a nawet na powstawanie mutantów nowotworowych [5].

Naturalnym mechanizmem ochronnym ludzkiego organizmu przed promieniowaniem UV oraz wynikającym z niego stresem oksydacyjnym jest m.in. melanogeneza i powstająca w jej wyniku melanina [6].

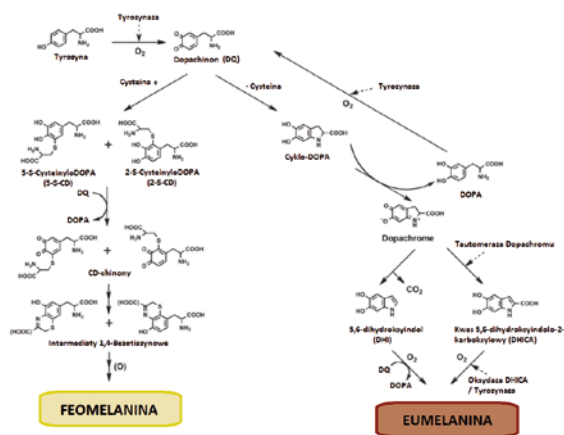
MELANOCYTY, MELANOSOMY I MELANOGENEZA

Pigmentami nadającymi barwę ludzkiej skórze są związki z grupy melanin. Powstają one w komórkach zwanych melanocytami, które są odpowiedzialne nie tylko za ich produkcję, ale również za ich dystrybucję. Melanocyty stanowią około 1% komórek warstwy podstawnej naskórka. Stamtąd melaniny w specjalnych organellach – melanosomach, transportowane są do keratynocytów, gdzie tworzą struktury chroniące ich jądra komórkowe przed szkodliwym promieniowaniem UV [7].

Cały aparat biochemiczny niezbędny do naturalnej fotoochrony skóry znajduje się właśnie w melanosomach. Ze względu na silną reaktywność chinonów niezbędnych do procesu melanogenezy, całość reakcji odbywa się wewnątrz tych organelli komórkowych. Zachodzący proces syntezy melaniny oddzielony jest błoną komórkową, dzięki czemu zjawisko to zapobiega uwolnieniu jej do cytoplazmy melanocytu [7]. Rozpatrując proces pigmentacji warto podkreślić, że melanina obecna w melanosomach zostaje w nich, aż do całkowitej degradacji błon komórkowych. Dzięki temu, gdy ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe wzrasta, melanina jest już częściowo zgromadzona w melanosomach, które jednocześnie zwiększają intensywność produkcji.

Melanogeneza jest wieloetapowym procesem utleniania i polimeryzacji, w którym tyrozyna przekształcana jest w dopachinon, a następnie w jedną z form melaniny. Eumelaninę stanowi barwnik ciemny, czarny lub brązowy, w zależności od zagęszczenia. Odpowiada za ciemne zabarwienie skóry i brązową opaleniznę po ekspozycji na słońce. Feomelaninę stanowi barwnik jasny, czerwono-żółty, o najniższym zagęszczeniu. Wytwarzana jest jako pierwsza podczas ekspozycji na promieniowanie słoneczne i objawia się w postaci podrażnienia [6].

Zadaniem melanin jest ochrona głębszych warstw skóry przed szkodliwym promieniowaniem UVA i UVB. Ze względu na swoje właściwości fotoabsorbujące szacuje się, że melaniny są w stanie skutecznie rozpraszać do 99,9% zaabsorbowanego



Rys. 1 Schemat procesu melanogenezy Źródło: Archiwum własne, BBH Biotech Polska

promieniowania ultrafioletowego [6, 8]. Chronią komórki przed rozpadem folianów, degradacją wierzchnich warstw skórnych, a także zmniejszają ryzyko czerniaka.

KOLOR SKÓRY A ZAGROŻENIE CZERNIAKIEM

W zależności od rodzaju karnacji, melanosomy w naskórku mogą przyjmować różne formy i stanowić różny poziom fotoochrony. U osób o ciemnej skórze melanosomy są większe, elipsoidalne i zawierają bardzo dużo eumelaniny. Nie tworzą skupisk, jednak jest ich wyjątkowo dużo i są one odporne na działanie enzymów lizosomalnych, co zmniejsza ryzyko ich degradacji. W skórze jasnej melanosomów jest zauważalnie mniej. Są one mniejsze oraz zawierają mniej melaniny, dlatego w celu skutecznego chronienia keranocytów tworzą skupiska związane z błoną komórkową. Największe ryzyko można zaobserwować u osób o jasnej cerze. W ich przypadku w keranocytach górnych warstw naskórka nie znajdziemy melanosomów, a jedynie tzw. pył melaninowy, który jest efektem całkowitej degradacji melanosomów przez enzymy lizosomalne. Wpływa to bardzo niekorzystnie na fotoprotekcję i zwiększa ryzyko kancerogenezy w skórze [5, 7, 9].

Nie należy jednak zupełnie unikać ekspozycji na promieniowanie słoneczne. Jego odpowiednia dawka stymuluje procesy związane z melanogenezą oraz te odpowiedzialne za naprawę komórek uszkodzonych przez stres oksydacyjny czy promieniowanie UV [8].

Nadużywanie fotoprotekcji może powodować zaburzenia melanogenezy, obniżenie zdolności organizmu do syntezy melaniny, a także obniżyć wydajność niektórych mechanizmów naprawczych DNA. Jednym z enzymów odpowiedzialnych za radzenie sobie ze stresem oksydacyjnym w melanocytach jest katalaza. W badaniach in vitro i ex vivo zaobserwowano w melanocytach pochodzących z jasnej skóry (typ I i II), iż aktywność katalazy jest mniejsza niż w melanocytach pochodzących ze skóry ciemniejszej. Dlatego kontakt z odpowiednią dawką promieniowania dziennego jest niezbędny do utrzymania aktywności antyoksydacyjnej w melanocytach oraz naturalnej fotoochrony [10].

WPŁYW PH NA PROCES MELANOGENEZY

Podczas powstawania i dojrzewania melanosomów poziom pH wewnątrz organelli ulega zmianie. Z początkowego kwaśnego, o wartości 5,0 rośnie do niemal obojętnego tj. pH 6,8. Zmiana ta jest niezwykle istotna, ponieważ tyrozynaza (główny enzym w procesie melanogenezy) traci aktywność w kwaśnym środowisku. Warto mieć to na uwadze zarówno w przypadku długotrwałej ekspozycji skóry na promieniowanie słoneczne jak i w profilaktyce przebarwień [2, 10]. Stosowanie produktów do pielęgnacji skóry z odpowiednio obniżonym pH, np. serum z hydroksykwasami lub składnikami aktywnymi, takimi jak witamina C, może stanowić skuteczną profilaktykę powstawania przebarwień.

AKTYWNOŚĆ TYROZYNAMY A ODCZYN PH SKÓRY

Tworzenie bariery hydrolipidowej na powierzchni skóry zależy od wartości pH zarówno powierzchni skóry właściwej, jak i w obrębie naskórka. Odczyn pH w środowisku warstwy brodawkowatej naskórka oraz podstawnej (w tym melanocytów) ma wartość pH 7,2-7,4. Ulega on obniżeniu do 4,0-5,5 w warstwie rogowej. Różnica gradientu pH związana jest z działaniem enzymu sulfonilotransferazy oraz kwaśnymi produktami metabolizmu filagryny, m.in. kwasem urokainowym. Dysfunkcja procesu mającego na celu utrzymanie prawidłowego gradientu pH, np. w wyniku reakcji zapalnej powstałej w wyniku odczynu fototoksycznego spowodowanego izotretinoią (rys. 1), może prowadzić do enzymatycznej reakcji hydrolizy lipidów międzykomórkowych, zmiany ich składu oraz budowy przestrzennej [11]. Wadliwy proces zaburza wówczas fizjologiczną funkcję barierową i spójność warstwy rogowej objawiając się suchością cery, jednocześnie zwiększając ryzyko zaburzeń melanogenezy, prowadzących do hiperpigmentacji. Wzrost odczynu pH w okolicach melanosomów, powstały w wyniku upośledzenia regulacji gradientu pH, może prowadzić do lokalnej nadaktywności tyrozynazy i przyczynić się do trwałego wadliwego procesu melanogenezy, co nie zawsze musi się odbywać w przypadku przedawkowania promieniowania UV.

Podobne zjawisko można by przypisać działaniu antykoncepcji hormonalnej, nieodpowiedniej pielęgnacji nadmiernie wysuszającej naskórek np. produktami matującymi czy ekspozycji skóry na promieniowanie UV po inwazyjnych zabiegach złuszczeniowych [12].

DZIAŁANIE ROZJAŚNIAJĄCE KOSMETYKÓW

W profilaktyce przebarwień oraz ich rozjaśnianiu, najistotniejszym jest wstrzymanie (kompleksowe lub miejscowe) aktywności tyrozynazy. W tym celu stosuje się składniki aktywne, które hamują działanie enzymu poprzez zmianę pH środowiska, konformacji białka lub wiązanie się z enzymem, blokując w ten sposób jego centrum aktywne. W artykule zaprezentowano wyniki badania in vitro, które miało na celu sprawdzenie wymienionych działań kilku przykładowych produktów.



Fot. 1 Hiperpigmentacja (chloasma), powstała prawdopodobnie w wyniku odczynu fototoksycznego spowodowanego leczeniem izotretinoią Źródło: Archiwum własne autorów

BADANIE IN VITRO WYBRANYCH PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH

• Testowane produkty

- Serum z kwasem szikimowym i jadem pszczelim
- Profesjonalny peeling kwasowy z jadem pszczelim
- Serum z oksyresweratolem, kwasem szikimowym, witaminą C i arbutyną

• Cel badania

Potwierdzenie działania dla całego produktu kosmetycznego zgodnie z Rozporządzeniem Komisji UE nr 665/2013 określającym uzasadnienia oświadczeń na produktach kosmetycznych.

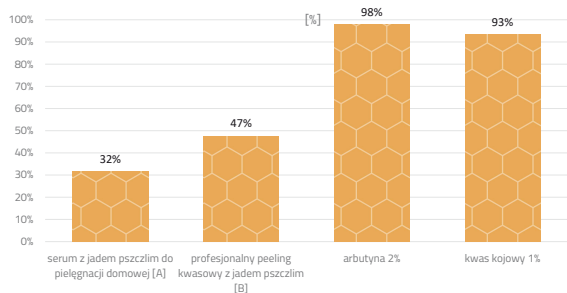
- Potwierdzenie właściwości hamujących aktywność tyrozynazy dla cery z tendencją do przebarwień potrądzikowych dla produktu do stosowania na dzień i na noc. Potwierdzenie deklaracji marketingowych przeciwdziałania przebarwieniom (produkt A).
- Potwierdzenie właściwości hamujących aktywność tyrozynazy dla cery z tendencją do przebarwień potrądzikowych dla produktu do użytku profesjonalnego (produkt B). Potwierdzenie deklaracji marketingowych – działanie rozjaśniające cerę.
- Potwierdzenie właściwości hamujących aktywność tyrozynazy dla cery z obecnymi przebarwieniami, takimi jak: ostuda, melasma czy chloasma dla produktu do stosowania na noc. Potwierdzenie deklaracji marketingowych – rozjaśnianie przebarwień (produkt C).

• Metoda

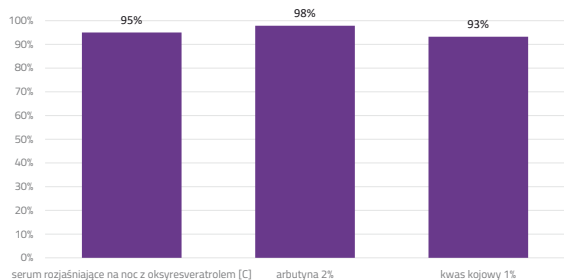
Analizę przeprowadzono w następujących krokach:

- Rozpuszczono badane substancje w 10% dimetylosulfotlenku (DMSO) w roztworze wodnym i ustalono pH na poziomie 6,8.
- Dodano roztwór tyrozynazy (135 U/ml roztwór buforowany fosforanem [PBS], pH 6,8).
- Inkubowano w 25°C przez 10 minut.
- Dodano 0,5 mM roztwór L-DOPA w PBS, pH 6,8.
- Inkubowano mieszaninę reakcyjną przez 5 minut.
- Określono ilość dopachromu w mieszaninie z wykorzystaniem spektrofotometru przy długości fali 475 nm.

Za kontrolę pozytywną posłużyły składniki aktywne o właściwościach blokujących aktywność tyrozynazy – arbutyna i kwas kojowy. Kontrolą negatywną była woda, która nie została uwzględniona na wykresach (rys. 2, 3) [3, 13].



Rys. 2 Hamowanie tyrozynazy w przykładowych produktach wyrównujących koloryt [%]



Rys. 3 Hamowanie tyrozynazy w przykładowym produkcie usuwającym przebarwienia [%]
Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badań in vitro BBH Biotech Polska

WYNIKI

Serum [A] i peeling chemiczny [B] z jadem pszczelim oraz kwasem szikimowym wykazują aktywność inhibicyjną wobec tyrozynazy na poziomie 32% (serum) i 47% (peeling), co oznacza bezpieczeństwo stosowania produktu na dzień. Dodatkowo oba produkty ze względu na obecność m.in. kwasu szikimowego wykazują kwaśny odczyn pH 4,3 (serum) i 3,6 (peeling), który dodatkowo zwiększa potencjał działania hamującego wobec tyrozynazy. Można przypuścić, że w wyniku stosowania produktu na dzień u osób z cerą skłoną do przebarwień, ryzyko powstania hiperpigmentacji będzie znacznie mniejsze. Wynik wskazuje również, że stosowanie serum, pomimo obecności hydroksykwasów, jest bezpieczne (ze względu na profilaktyczny potencjał działania produktu) na proces nadmiernej melanogenezy na poziomie 32%, a nie jego całkowite hamowanie. Codzienne aplikowanie serum może być skuteczną pielęgnacją rozjaśniającą cerę przez cały rok, przeznaczoną dla osób z cerą trądzikową oraz z cechami fotostarzenia.

Serum z oksyresweratolem [C] wykazuje aktywność hamującą wobec tyrozynazy na poziomie 95%, co oznacza potwierdzoną skuteczność rozjaśniającą przebarwienia dla całego produktu. Dodatkowo kwaśny odczyn produktu prawdopodobnie zwiększa potencjał działania hamującego oraz naturalnej proliferacji naskórkowej powodującej przyspieszone usuwanie poprzez złuszczenie. Ze względu na duży potencjał hamowania melanogenezy, produkt powinno się stosować na noc lub po

ekspozycji na słońce. Obecność antyoksydantów takich jak kwas 3-O etyloaskorbinowy, kwas ferulowy czy oksyresweratrol, wydaje się być korzystnym połączeniem, które może wspomagać naturalny proces regeneracji, szczególnie po nadmiernej ekspozycji skóry na promieniowanie UV.

PODSUMOWANIE

Badania kosmetyków na przebarwienia to intensywnie rozwijająca się część przemysłu kosmetycznego, w którym istotną rolę odgrywa biotechnologia. Nauka ta umożliwia między innymi zbadanie działania produktów kosmetycznych w warunkach in vitro przed rozpoczęciem testów wykonywanych z udziałem ludzi.

Testy hamowania aktywności tyrozynazy mogą w znaczący sposób przyczynić się do wykazania jakości działania produktu kosmetycznego dzięki weryfikacji działania dla całego kosmetyku, a nie tylko wybranych składników produktu. Jest to istotne w kontekście treści Rozporządzenia Komisji (UE) nr 655/2013, dotyczącego produktów kosmetycznych i określającego uzasadnienia oświadczeń marketingowych. Dokument techniczny, powstały w ramach tego rozporządzenia, reguluje rodzaje deklaracji marketingowych umieszczanych na opakowaniach kosmetyku. Należy do nich potwierdzenie działania całego produktu na przebarwienia np. „serum na przebarwienia”, zamiast „serum rozjaśniające z aktywnym kompleksem rozjaśniającym na przebarwienia”.

Warto podkreślić również, iż profilaktyka przebarwień to nie tylko stosowanie kosmetyków o działaniu fotoochronnym, ale również codzienna pielęgnacja produktami o obniżonej wartości odczynu pH, które zmniejszają aktywność tyrozynazy.

Codzienna systematyczna pielęgnacja produktami o potwierdzonym działaniu na proces melanogenezy wydaje się być alternatywą dostępną niezależnie od pory roku w stosunku do inwazyjnych zabiegów gabinetowych usuwających przebarwienia.

LITERATURA

- Videira IF, Moura DF, Magina S. Mechanisms regulating melanogenesis. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 2013, vol. 88: 76-83.
- Ancans J, Tobin DJ, Hoogduijn MJ, Smit NP, Wakamatsu K, Thody AJ. Melanosomal pH controls rate of melanogenesis, eumelanin/phaeomelanin ratio and melanosome maturation in melanocytes and melanoma cells. *Experimental Cell Research* 2001, vol. 268: 26-35.
- Cui HX, Duan FF, Jia SS, Cheng FR, Yuan K. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activities of Seed Oils from *Torreya grandis* Fort. ex Lindl. *BioMed Research International* 2018, vol. 2018: 1-10.
- McNaught AD, Wilkinson A. Radical ion. *Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*, International Union of Pure and Applied Chemistry 1997, vol. 2: 1234-1235.
- McNaught AD, Wilkinson A. Diradicals. *Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*, International Union of Pure and Applied Chemistry 1997, vol. 2: 427.
- Brenner M, Hearing VJ. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochemistry and Photobiology* 2008, vol. 84: 539-549.
- Rok J, Otręba M, Buszman E, Wrześniak D. Melanina – z melanocyty do keratynocyty, czyli jak przebiega transport melaniny w skórze. *Annales Academiae Medicae Silesiensis* 2012, vol. 66: 60-66.
- Stepień K. Udział melanocytów w ochronie przed stresem fotooksydacyjnym. *Postępy Biochemii* 2010, vol. 56: 290-297.
- Schallreuter KU, Kothari S, Chavan B, Spencer JD. Regulation of melanogenesis – controversies and new concepts. *Experimental Dermatology* 2008, vol. 17: 395-404.
- Otręba M, Rok J, Buszman E, Wrześniak D. Regulacja melanogenezy: rola cAMP i MITF. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2012, vol. 66: 33-40.
- Rippe F, Schreiner V, Schwanitz HJ. The acidic milieu of the horny layer. New findings on the physiology and pathophysiology of skin pH. *American Journal of Clinical Dermatology* 2002, vol. 3(4): 261-272.
- Chikakane K, Takahashi H. Measurement of skin pH and its significance in cutaneous diseases. *Clinics in Dermatology* 1995, vol. 13(4): 299-306.
- Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences* 2009, vol. 10(6): 2440-2475.