Badania in vivo kosmetyków z filtrem oraz synergistycznej pielęgnacji antyoksydacyjnej

In vivo research on cosmetics with a sunscreen and synergistic antioxidant care

STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono badania potwierdzające synergistyczne działanie kosmetyków z filtrem oraz pielęgnacji antyoksydacyjnej w warunkach rzeczywistych. Celem była ocena bezpieczeństwa i racjonalizacja zasadności użytkowania oraz dawkowania kosmetyków fotoochronnych. Sprawdzone tolerancję skóry oraz skuteczność działania formułacji kosmetycznych, których kluczowe składniki dobrano w taki sposób, aby minimalizować pojawiające się dermatozy.

Dokonano pomiarów poziomu nawilżenia, elastyczności, natłuszczenia, pomiaru przeznaskórkowej utraty wody oraz wartości pH skóry ochotników.

Przeprowadzone doświadczenie przyczyniło się do potwierdzenia skuteczności badanych substancji aktywnych wpływających na poprawę parametrów biofizycznych skóry.

Słowa kluczowe: krem, filtry, proces melanogenezy, pielęgnacja antyoksydacyjna, badania *in vivo*

ABSTRACT

The article presents research confirming the synergistic action of cosmetics with sunscreens and antioxidants. The aim of the study was to assess the safety and rationalize the use and dosage of photoprotective cosmetics. Skin tolerance and the effectiveness of cosmetic formulations were confirmed and the key ingredients were selected to minimize the appearance of dermatoses.

The level of hydration, elasticity, lubrication, transepidermal water loss and the pH value of skin of volunteers were measured. The conducted experiment confirmed the effectiveness of the tested active substances to improve the biophysical parameters of the skin.

Keywords: cream, sunscreens, melanogenesis process, antioxidant care, *in vivo* tests

WPROWADZENIE

Naturalny proces melanogenezy skóry jest cennym ewolucyjnie mechanizmem, który chroni organizm ludzki przed nadmierną ekspozycją na promieniowanie słoneczne. Kosmetyki z filtrem umożliwiają osobom z dysfunkcją naturalnej fotoochrony oraz narażonym na promieniowanie ultrafioletowe UV wspomagać ochronę organizmu przed destrukcyjnym działaniem promieniowania UV. Kosmetyki te chronią również skutecznie przed przedwczesnym fotostarzeniem oraz powstawaniem nowotworów skórnych. Wraz z rozwojem technologii pozyskiwania nowych sub-

stancji promieniochronnych oraz wprowadzeniem oznaczeń marketingowych deklarujących stopień fotoochronny, konsumenci zaczęli nadużywać stosowania tego typu kosmetyków. Fakt ten przyczynił się do negowania roli promieniowania słonecznego. Biorąc pod uwagę korzyści wynikające z dodatkowej fotoochrony jaką umożliwiają kosmetyki z wysokim wskaźnikiem ochrony przeciwsłonecznej SPF (*sun protection factor*), należy uwzględnić również właściwości i oddziaływanie wtórne emulsji kosmetycznej mającej bezpośredni kontakt z barierą hydrolipidową i moż-

liwość ingerencji w fizjologię naskórka. Zarówno korzyści, jak i działania niepożądane spowodowane nadmierną aplikacją, powinny być brane pod uwagę w aspekcie ingerencji w wartość pH naskórka oraz roli naturalnego procesu melanogenezy, jako niezbędnego zjawiska fotoprotekcji skóry. Podczas opracowywania sposobu użytkowania danego kosmetyku ochronnego należy również uwzględnić wysokość wskaźnika SPF oraz jego zakres ochronny, wartość pH produktów kosmetycznych oraz dodatkowe funkcje – między innymi antyoksydacyjną. Generalizowanie sposobu użytkowania i częstotliwości aplikacji kosmetyków fotoprotekcyjnych, bez personalizacji zaleceń wydaje się nadużyciem działającym na szkodę przemysłu kosmetycznego, jak i dermatologii [1].

Pielęgnacja skóry podczas nadmiernego działania promieniowania słonecznego, to nie tylko fotoprotekcja przed poparzeniem, ale przede wszystkim regeneracja. Proces melanogenezy, czyli naturalnej pigmentacji skóry, jest mechanizmem, który wykształcił się w przeciągu 1 miliona lat. Melanina jest kluczowym antyoksydantem i filtrem, który chroni kwas foliowy ulegający degradacji pod wpływem promieniowania ultrafioletowego. Sama fotoprotekcja z udziałem wysokich wskaźników SPF zalecana jest tylko w szczególnych przypadkach: gdy z nieprzystosowaną skórą podróżuje się w miejsca charakteryzujące się dużym nasłonecznieniem, stosuje się leczenie fotouwrażliwiające oraz uprawia się wielogodzinną aktywność na słońcu. W pozostałych przypadkach zaleca się stosowanie niższych filtrów w połączeniu z pielęgnacją wspomagającą regenerację naskórka. Należy do nich szczególnie kosmetyki z antyoksydantami.

Poza obszarami położonymi w strefie tropikalnej, można założyć powolny wzrost promieniowania UVB wiosną do poziomów zdolnych do indukowania fotosyntezy witaminy D3. Dzieje się tak z powodu reakcji, w której pośredniczy białko 53 (p53) na uszkodzenie DNA wywołane przez promieniowanie ultrafioletowe UV, co prowadzi do zwiększonej produkcji melaniny poprzez zwiększoną syntezę hormonu stymulującego α -melanocyty (α -Msh) [2]. W warunkach wolno rosnącego promieniowania UVB, oparzenia słoneczne byłyby rzadkie i nie stanowiłyby zagrożenia dla przetrwania ani sukcesu reprodukcyjnego. Nasi przodkowie spędzali dużo czasu na świeżym powietrzu bez ubrania i byli poddawani stopniowym zmianom intensywności promieniowania UV i mieszaniu się długości fal wraz z porami roku. Nie pokonywali dużych odległości od domu, aby wyjechać na wakacje w słoneczne miejsca, nie korzystali również z solariów. Opalanie jest postrzegane przez współczesnych klinicystów jako niedoskonała adaptacja do UV (promieniowanie ultrafioletowe), ponieważ uszkadza tkanki łączne skóry, układ odpornościowy i DNA, a tym samym prowadzi do postępujących zmian prowadzących do raka skóry [3].

CEL PRACY

Celem pracy była ocena bezpieczeństwa i racjonalizacja zasadności użytkowania oraz dawkowania kosmetyków foto-

ochronnych. Kolejnym celem było sprawdzenie tolerancji skóry oraz skuteczności działania formułacji kosmetycznych, których kluczowe składniki są dobrane w taki sposób, aby minimalizować pojawiające się dermatozy.

METODY BADAWCZE

W Centrum Dermatologii Symbiosis w Poznaniu zostały przeprowadzone badania aplikacyjne (*in vivo*) na skórze ochotników, potwierdzające skuteczność połączenia kosmetyków zawierających filtry z pielęgnacją antyoksydacyjną. Badania zostały również przeprowadzone w warunkach rzeczywistych. Grupa 20 osób została poddana zabiegowi R-OXY.

Głównymi substancjami aktywnymi wchodzącymi w skład zabiegu R-OXY są: 3,0 etyl kwasu askorbinowego, kwas szikimowy, migdałowy, traneksamowy, mlekowy, arginina, oksyresweratrol, naturalny czynnik nawilżający NMF (*natural moisturizing factor*) oraz dysmutaza nadtlenkowa SOD (*superoxide dismutase*).

Kolejnym etapem po zabiegu R-OXY było przebywanie uczestników w warunkach wysokiego nasłonecznienia (30-35°C), przez okres tygodnia, przez 8 godzin dziennie jeździli rowerem, przebywając cały czas w pełnym nasłonecznieniu, następne pięć tygodni spędzili aktywnie poddając ciało ekspozycji na promieniowanie słoneczne. Skóra osób rozpoczynających badanie była nieopalona po okresie zimowym. Zabieg R-OXY stanowił pierwszy krok przygotowania do wystawienia ciała na nadmierne działanie promieniowania słonecznego. Przed rozpoczęciem doświadczenia, osobom uczestniczącym w badaniu, wykonano zabieg R-OXY peel 50% Back To Comfort na okolice twarzy, pleców oraz dekoltu. Zabieg ten opiera się na użyciu między innymi kwasu traneksamowego.

Przebieg zabiegu R-OXY

1. Przygotowanie do peelingu

Należy umyć starannie twarz żelem micelarnym z wodą i osuszyć dokładnie ręcznikiem.

2. Peeling kawitacyjny

Należy nanieść na płatek kosmetyczny 1 ml toniku, następnie zwilżyć go dodatkowo letnią wodą. Wykonać peeling kawitacyjny. Osuszyć skórę płatkami kosmetycznymi.

3. Wykonanie Prepeelingu R-OXY 50% (kwas migdałowy, kwas szikimowy, kwas traneksamowy).

Dodatkowo w składzie występuje oksyresweratrol oraz dysmutaza nadtlenkowa.

Należy nałożyć ok 1 ml peelingu na płatek kosmetyczny. Następnie nanieść na skórę równomiernie rozprowadzając z ominięciem powiek, bez pocierania. Wklepać produkt opuszkami palców do całkowitej krystalizacji kwasu na skórze. Następnie zmyć płatkami lub ręcznikiem z obfitą ilością zimnej lub letniej wody bez pocierania skóry. Powtarzać czynność zmywania do całkowitego ustąpienia pieczenia szczególnie w strefie T.

4. **Wykonanie Peelingu R-OXY 50%** (kwas migdałowy, kwas szikimowy, kwas cytrynowy, kwas ferulowy oraz kwas transeksamowy). Dodatkowo w składzie występuje oksyresweratrol, kwas 3-O etyl askorbinowy, ekstrakt z wąkrotki azkactyckiej oraz dysmutaza ponadlinkowa.

Procedura wykonania zabiegu – taka sama jak w p. 3.

5. Aplikacja serum R-OXY

Należy nanieść dwie krople serum i wmasować w skórę twarzy do całkowitego wchłonięcia. Celem nałożenia serum jest odczucie łagodzenia skóry. Aplikacja serum jest niezbędna po wykonaniu peelingu chemicznego, gdyż ogranicza stres oksydacyjny cennych lipidów w naskórku. Pozostałości produktu należy delikatnie wmasować. Serum charakteryzuje się właściwościami rozjaśniającymi przebarwienia. W jego skład wchodzi kwas szikimowy i witamina C.

6. Nałożenie maski hydrożelowej

Nałożyć maskę na skórę twarzy. Pozostawić produkt na czas 15-20 min.

7. Aplikacja kremu R-OXY

W ostatnim etapie zabiegu należy zmyć delikatnie nadmiar poprzednio użytych produktów płatkami z wodą. Wmasować krem nawilżający, którego głównym składnikiem jest oksyresweratrol. W jego skład wchodzi również azeoglicyna, arbutyna oraz wspomniany wcześniej kwas transeksamowy.

Opcjonalnie dokonano aplikacji kremu z filtrem minimum 30+ SPF.

Natomiast wdrożenie pielęgnacji antyoksydacyjnej oraz kosmetyków ochronnych SPF stanowiło drugi etap przygotowania skóry do podróży badanych osób w bardziej nasłonecznione rejon oraz korzystania z aktywności fizycznej na świeżym powietrzu.

Warunki stosowania kosmetyków

Dzienna pielęgnacja polegała na aplikacji rano serum i kremu SOD-C, którego głównymi substancjami aktywnymi są: kwas 3-O etyl askorbinowy, dysmutaza ponadtlenkowa, glutation, kompleks lipidów 22, hydroxyapatyt, mocznik 5%. Podczas przebywania w miejscu wysokiego nasłonecznienia należało aplikować kosmetyk z filtrem SPF 50 lub 30 dobierany indywidualnie w zależności od potrzeb i fototypu probantów. Sugerowano, aby nie nakładać nadmiernej ilości produktów fotoochronnych jeśli nie przebywa się w miejscach nasłonecznionych. Po intensywnej aktywności fizycznej probantów w miejscu wystawionym na działanie promieniowania ultrafioletowego, stosowano wieczorem serum i krem R-OXY, których głównymi składnikami są: oksyresweratrol, kwas 3-O etyl askorbinowy, kwas szikimowy, kojowy, arbutyna, acetyloglicyna, beta alanina, kwas transeksamowy, azeoglicyna. Należało oczywiście pamiętać o odpowiednim oczyszczeniu skóry tonikiem (którego zadaniem jest przywrócenie odpowiedniej wartości pH skóry) oraz kosmetykiem zawierającym w swoim składzie łagodne surfaktanty.

- Podczas stosowania formułacji kosmetycznych nie można było używać innych środków pielęgnacyjnych na obszar poddany badaniu.
- Należało regularnie stosować badane preparaty przez okres 6 tygodni.
- Należało natychmiast przerwać stosowanie produktów w przypadku wystąpienia jakichkolwiek objawów podrażnienia lub alergii.
- Niespodziewane skutki uboczne należało zgłosić osobie prowadzącej doświadczenie.
- Należało obserwować właściwości stosowanych preparatów (działanie pielęgnacyjne, tolerancja, uczucie na skórze, nawilżenie, wygładzenie, rozprowadzalność oraz zdolność wchłaniania).
- Udział w badaniu był dobrowolny. Istniała możliwość odstąpienia od udziału w badaniu na każdym etapie jego trwania, bez podania przyczyny. Dane osobowe były przetwarzane wyłącznie w celach analizy naukowej, zgodnie z obowiązującym w Polsce prawem (Ustawą z dnia 10.05.2018 r. o Ochronie Danych osobowych Dz. Ust. 2018 poz. 1000).
- Badania zostały przeprowadzone w oparciu o zgodę Komisji Bioetycznej numer uchwały 640/20.

Badanie parametrów biofizycznych skór

Badanie parametrów biofizycznych przeprowadzono za pomocą zespołu sond MPA 580Courage + Khazaka electronic GmbH połączonych z komputerem wyposażonym w sondę do mierzenia temperatury oraz wilgotności powietrza. Wszystkie pomiary przeprowadzono na 20 probantach, pomiarowi została poddana strefa T (policzki, broda i czoło) czyli miejsca, gdzie nakładano kosmetyki. Pomiary były dokonywane przed rozpoczęciem oraz po 6 tygodniach.

Poziom nawilżenia naskórka badany był za pomocą korneometru, który mierzy zawartość wody w warstwie rogowej naskórka. Pomiar opierał się na przewodnictwie elektrycznym. Im większa zawartość wody w naskórku, tym mniejsza pojemnościowa oporność, co wskazuje na wyższy stopień nawilżenia skóry.

Pomiar przeznaskórkowej utraty wody przeprowadzono na skórze wszystkich probantów. Badania przeznaskórkowej utraty wody TEWL (*transepidermal water loss*) wykonano za pomocą tewametru, wchodzącego w skład zespołu sond MPA 580 Courage + Khazaka electronic GmbH. Urządzenie posiada czujniki mierzące wilgotność i temperaturę, w związku z czym można określić czas utrzymywania się właściwego poziomu nawilżenia skóry (szybkość parowania wody).

Poziom elastyczności badany był za pomocą kutometru połączanego ze wspomnianym zestawem. Zasada działania kutometru opiera się na podciśnieniu wytwarzanym w urządzeniu, do którego dołączona jest niewielka sonda. Zaopatrzona jest ona w otwór, którym przykładana jest powierzchnia skóry. Pod wpływem podciśnienia skóra jest delikatnie zasysana do wnętrza otworu. Wewnątrz sondy znaj-

duje się optyczny system pomiarowy. Składa się on z źródła i receptorów światła oraz dwóch pryzmatów ustawionych naprzeciwko siebie przekazujących światło od transmittera do receptora. Intensywność światła zmienia się w zależności od stopnia zassania skóry przez urządzenie. Ludzka skóra jest lekko sprężysta, znaczy to, że zawiera składniki o cechach elastycznych oraz te o cechach plastycznych. Opór skóry przeciwko jej wessaniu do wnętrza sondy (odporność na odkształcenia) oraz zdolność powrotu odkształconej skóry do pierwotnego położenia (elastyczność) są podstawowymi parametrami warunkującymi zdrową skórę.

Pomiar poziomu natłuszczenia skóry opiera się na zasadzie fotometrii tłustej plamy. Sebumetr, to aparat który stosuje się do oznaczenia poziomu zawartości tłuszczu za pomocą folii z tworzywa sztucznego, której przepuszczalność światła zmienia się po zwilżeniu tłuszczem powierzchni. Badanie to obrazuje w jaki sposób funkcjonują gruczoły łojowe skóry.

Pomiar wartości pH skóry zbadano przy użyciu pehametru. Polega on na nieinwazyjnej metodzie, w której urządzenie składające się z elektrody znajdującej się w szklanej sondzie przykładane jest do powierzchni skóry. Wyniki podawane są w skali wartości pH, określającej koncentrację jonów wodorowych. Odczyn skóry zależy od czynników związanych z naskórkiem i wydzielniczością gruczołów. Odczyn pH powierzchni naskórka jest kluczowym badaniem informującym o skłonności skóry do infekcji, skłonnościach do zaburzeń rogowacenia i łojotoku. Kwaśny odczyn pH 5,0-5,5 utrzymuje naturalną mikroflorę skóry, natomiast zasadowy wzmacnia rozwój i wnikanie szkodliwych drobnoustrojów powodujących infekcje. Odczyn pH związany jest również z odpornością cery wrażliwej, której reaktywność zależy od jego zmian podczas czynności pielęgnacyjnych, takich jak: mycie, aplikacja kremów czy tonizacja. Reakcja alergiczna na kosmetyki jest często mylona z reaktywnością na zmiany odczynu pH na powierzchni naskórka podczas aplikacji poszczególnych produktów, które wystarczy odpowiednio dobrać po badaniu pH naskórka [5].

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej substancji aktywnych zawartych w badanych kosmetykach z wykorzystaniem rodnika DPPH[•] (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl)

Aktywność antyoksydacyjną substancji aktywnych zawartych w recepturze badanych kosmetyków (seria R-OXY oraz SOD-C) oznaczano według zmodyfikowanej metody Brandt-Williamsa i wsp. z użyciem syntetycznego rodnika DPPH[•] – 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu [6] (rys. 1).

Redukcja przeprowadzona została za pomocą stabilnego rodnika azotowego powodującego spadek absorbancji substancji aktywnych, które wchodziły w skład badanych próbek. Rodnik DPPH[•] w roztworach przybrał barwę purpurową, która uległa zmianie w wyniku jego reakcji z badanymi substancjami aktywnymi. Stopień zmiany barwy roztworu

DPPH[•], po dodaniu do niego roztworu zawierającego składniki aktywne, głównie oksyresweratrol, jest miarą ich zdolności do zmiatania wolnych rodników. Absorbancję roztworu mierzono przy długości fali $\lambda=517$ nm [7].

Alkoholowy roztwór DPPH[•] przygotowano rozpuszczając 2,8 mg rodnika DPPH[•] ($M=394,32$ g/mol) w 100 ml metanolu, następnie odczytano jego absorbancję (próba kontrolna). Roztwór przechowywano bez dostępu światła. Wykonano próby kosmetyków. Przygotowanie prób zawierających przeciwutleniacze – 1 gram kremu poddano ekstrakcji metanolem w rozdzielaczu, następnie gwałtownie mieszano przez około 5 minut. Następnie ekstrakt przesączało za pomocą lejka Büchnera i przechowywano w ciemnym miejscu. Do 3 ml roztworu DPPH[•] dodano 2 ml wcześniej przygotowanego ekstraktu. Całość podgrzewano w łaźni wodnej o temperaturze 37°C przez 30 minut. Od zainicjowania reakcji, przez 30 minut mierzono absorbancję przy pomocy spektrofotometru UV-Vis.

Wyniki przedstawione zostały za pomocą procentu wygaszania wolnych rodników obliczonego według wzoru:

$$\text{procent inhibicji} = 100 (A_0 - A_1) / A_0$$

gdzie:

A_0 – absorbancja roztworu rodnika DPPH[•] po 30 minutach bez dodatku substancji aktywnych.

A_1 – absorbancja roztworu rodnika DPPH[•] po 30 minutach w obecności badanych substancji aktywnych [5].

INTERPRETACJA UZYSKANYCH WYNIKÓW

Do badań zakwalifikowano 20 probantów. Zostali oni poddani pomiarowi parametrowi biofizycznych skóry. W kolejnej części doświadczenia, na zakwalifikowanej grupie ochotników, został wykonany zabieg wykorzystujący wspomniane wcześniej kosmetyki.

Na fotografii 1 przedstawiono fragmenty skóry wybranego uczestnika przed i po wykonanym zabiegu.

Wykonany zabieg rozjaśniający oraz depigmentujący, przeznaczony był dla osób z dysfunkcją melanogenezy. Charakteryzuje się on właściwościami rewitalizującymi oraz regenerującymi, opóźnia proces starzenia się skóry. Działanie

Rys. 1 Struktura chemiczna rodnika DPPH[•] oraz widma UV-Vis przed i po reakcji z substancją przeciwutleniającą

Źródło: [7]

peelingu oparto na innowacyjnym połączeniu kwasu szikimowego, migdałowego, mlekowego, argininy, oksyresweratrolu, kompleksu NMF oraz dysmutazy ponadtlenkowej. Kompleks NMF zapewnia kontrolowane uwalnianie cząsteczek AHA, a tym samym wpływa na zredukowanie podrażnienia skóry. Kwas szikimowy wykazuje właściwości antibakteryjne oraz depigmentacyjne. W recepturze wykorzy-

Fot. 1 Zdjęcie skóry probanta: A) przed zabiegiem, B) po wykonaniu peelingu, C) po całym zabiegu R-OXY

Źródło: Opracowanie własne

Rys. 2 Średnia zmiana poziomu nawilżenia skóry probantów obserwowana podczas trwania badań (n=20), * – p<0,05

Źródło: Opracowanie własne

stano oksyresweratrol, silniejszą pochodną resweratrolu o cennych właściwościach rozjaśniających przebarwienia, które w połączeniu z arbutyną i kwasem kojowym stanowią silny kompleks do walki z przebarwieniami. Zabieg został tak opracowany, aby można było go stosować przez cały rok. Arginina jest związkiem, który wychwytuje jony wodoru, które uwalniają się podczas działania reszt kwasowych, dzięki czemu (pomimo stężenia kwasu 50%), nie powoduje odczucia dyskomfortu oraz nadmiernego pieczenia. Obecność w recepturze peelingu witamin C oraz dysmutazy ponadtlenkowej, chroni przed nadmiernym stresem oksydacyjnym spowodowanym działaniem hydroksykwasów oraz zmniejsza ryzyko łuszczenia i wysuszenia skóry. Peeling ma potwierdzone działanie hamujące aktywność tyrozynazy [3].

Aby warstwa rogowa mogła w sposób prawidłowy pełnić swoje funkcje, niezbędna jest właściwa pielęgnacja skóry. Istotne znaczenie ma regularne usuwanie warstwy martwych komórek oraz utrzymywanie odpowiedniej wartości pH skóry. Na podstawie przeprowadzonego zabiegu można wywnioskować, że martwe komórki naskórka zostały usunięte, dzięki czemu skóra stała się wyraźnie oczyszczona ze wszelkich zanieczyszczeń. Celem zabiegu było ułatwienie transportu substancji pielęgnacyjnych наносzonych na powierzchnię skóry, odblokowanie porów skórnych, zapewnienie odpowiedniego poziomu nawilżenia skóry oraz optymalnych warunków pozwalających komórkom skóry na odbudowę i odnowę.

Wyniki pomiarów z udziałem zespołu sond MPA 580Courage + Khazaka electronic GmbH zostały przedstawione w tabelach 1-3. Pomiar trwał 6 tygodni. Ostatnie badanie było wykonywane w 6 tygodniu trwania doświadczenia. Wszystkie osoby, które rozpoczęły doświadczenie, ukończyły je. Probandi podczas próby zero nie stosowali pielęgnacji antyoksydacyjnej oraz filtrów ochronnych.

Poziom nawilżenia naskórka

Na rysunku 2 została przedstawiona zmiana wartości poziomu nawilżenia probantów. Należy pamiętać, że badani (n=20), poza próbą zero stosowali pielęgnację antyoksydacyjną oraz filtr ochronny. Następnie przebywali w warunkach działania nadmiernego promieniowania słonecznego. Wyniki zostały uśrednione. Wszystkie pomiary były prowadzone na policzkach oraz w strefie T i trwały 6 tygodni. Ostatnie badanie było wykonywane w 6 tygodniu trwania doświadczenia.

Wszystkie osoby które brały udział w badaniu, posiadały lepsze wyniki parametru nawilżenia. Na podstawie wyników przedstawionych na rys. 2 można zauważyć, że skóra jest złożonym narządem i mimo negatywnych czynników, samoistnie próbu-

Tabela 1 Interpretacja wyników pomiaru nawilżenia naskórka

Poziom nawilżenia naskórka	Wynik pomiaru [j.u.]
Skóra bardzo sucha	<30
Skóra sucha	30-45
Skóra dostatecznie nawilżona	>45

Źródło: Opracowanie własne

Tabela 2 Interpretacja wyników poziomu TEWL naskórka

Interpretacja wyników	Wartość TEWL [g/hm ²]
Skóra bardzo zdrowa	0-10
Skóra zdrowa	10-15
Skóra normalna	15-25
Skóra w złym stanie	25-30
Skóra w stanie krytycznym	>30

Źródło: Opracowanie własne

Tabela 3 Interpretacja wyników poziomu sebum

Poziom łożu	Wynik pomiaru [j.u.]
Skóra sucha	0-6
Skóra normalna	>6
Skóra tłusta	...

Źródło: Opracowanie własne

Rys. 3 Średnia zmiana wartości TEWL skóry probantów (n=20), * – p<0,05

Źródło: Opracowanie własne

Rys. 4 Średnia zmiana wartości elastyczności skóry probantów wykonywana podczas trwania badań (n=20), * – p<0,05

Źródło: Opracowanie własne

je przywracać właściwe parametry biofizyczne. Czas potrzebny na przywrócenie odpowiednich parametrów byłby o wiele dłuższy, gdyby nie zastosowana pielęgnacja antyoksydacyjna. Zmiany parametru nawilżenia wahały się średnio w zakresie 23-70 [j.u.]. W tabeli 1 została przedstawiona interpretacja wyników. Im dłuższy czas stosowania serii antyoksydacyjnej, tym parametr ulegał poprawie.

Pomiar przeznaskórkowej utraty wody

Na rysunku 3 została przedstawiona zmiana wartości transepidermalnej utraty wody probantów.

Na podstawie tabeli 2 można dokonać interpretacji wyników badań.

Na podstawie kolejnego wykresu możemy zauważyć, że wartość przeznaskórkowej utraty wody uległa zmniejszeniu, co świadczy o prawidłowej utracie wody. Zmiany parametru transepidermalnej utraty wody wahały się średnio w zakresie 25-5 [g/hm²]. Im dłuższy czas stosowania serii antyoksydacyjnej, tym parametr ulegał poprawie.

Poziom elastyczności

Badania pomiaru elastyczności skóry probantów potwierdziły, że zastosowanie połączenia kosmetyku z filtrem oraz pielęgnacji antyoksydacyjnej, pomimo wpływu gorącego powietrza na skórę probantów, podwyższa wartość tego parametru. Parametr elastyczności skóry badanych oscylował średnio w wartościach 0,5-1,0 [j.u.] (rys. 4). Interpretacja wyników poziomu elastyczności naskórka jest następująca: współczynnik elastyczności skóry – im bardziej ta wartość zbliża się do 1 (100%), tym bardziej elastyczna jest skóra.

Pomiar poziomu natłuszczenia

Na rysunku 5 przedstawiono zmianę poziomu natłuszczenia skóry probantów.

Skóra sucha, a taką posiadali probanci po przebywaniu w nadmiernie suchych/gorących warunkach, bardzo silnie reaguje na czynniki środowiskowe. Ze względu na te warunki, gruczoły łojowe probantów przestały wytwarzać odpowiednią ilość sebum, która jest potrzebna do prawidłowego natłuszczenia. Przesuszone skóra była również wynikiem niedoboru oraz zmiany ilość składników wchodzących w skład sebum. To właśnie lipidy, jak i prawidłowo wydzielane sebum, mają za zadanie chronić skórę przed czynnikami zewnętrznymi. Gdy poziom łożu jest zbyt niski, to skóra jest bardziej narażona na agresywne czynniki zewnętrzne. Po regularnym zastosowaniu serii antyoksydacyjnej wyniki poziomu sebum uległy poprawie (rys. 5). Średnia wartość badanego parametru oscylowała w granicach 3-7 [j.u.], w zależności od czasu trwania doświadczenia (tabela 3).

Pomiar wartości pH

Na rys. 6 została przedstawiona zmiana wartości pH probantów.

Prawidłowa wartość pH dorosłego człowieka wynosi 5,4-5,9. Jak można zauważyć na rys. 6 wartość pH probantów oscylowała w zakresie od 5,5-6,9. Im dłużej badane osoby przebywały w skrajnie suchym/ gorącym powietrzu, tym wartość ta ulegała wzrostowi. Zasadowa wartość pH jest negatywnym objawem świadczącym o zaburzeniu prawidłowego funkcjonowania. Natomiast po aplikacji serii antyoksydacyjnej można zauważyć, że wpływ substancji aktywnych o charakterze kwaśnym spowodował spadek badanej wartości. Przeprowadzono również badania pomiaru wartości pH po aplikacji samego kosmetyku z filtrem bez synergii z pielęgnacją antyoksydacyjną. Wyniki przedstawiono na rys. 7.

Na podstawie przeprowadzonego badania można stwierdzić, że aplikacja samego kosmetyku fotoochronnego, bez połączenia go z pielęgnacją antyoksydacyjną, powoduje podniesienie wartości pH. Jak już wspomniano, długotrwały wzrost badanej wartości jest negatywnym objawem świadczącym o zaburzeniu prawidłowego funkcjonowania skóry.

Warunki rzeczywiste

Po badaniach, probanci zostali poddani 8-godzinnej aktywności fizycznej w warunkach pełnego nasłonecznienia. W pierwszym etapie, badania zostały przeprowadzone podczas tygodniowych wyjazdów zagranicznych. W drugim etapie, badani przebywali do 6 tygodni w miejscach silnie nasłonecznionych.

Fotografie 2 przedstawiają poszczególnych probantów przed i po okresie ekspozycji na nadmierne promieniowanie słoneczne. Probandi w międzyczasie aplikowali pielęgnację antyoksydacyjną razem z filtrem ochronnym SPF 30 lub 50.

Fotografie 3 i 4 obrazują skóry probantów przed i po wystawieniu na promieniowanie słoneczne.

Rys. 5 Średnia zmiana wartości sebum probantów wykonywana podczas trwania badań (n=20), * – p<0,05
Źródło: Opracowanie własne

Rys. 6 Średnia zmiana wartości pH skóry probantów wykonywana podczas trwania badań (n=20), * – p<0,05
Źródło: Opracowanie własne

Rys. 7 Średnia zmiana wartości pH probantów wykonywana podczas trwania badań (n=20), * – p<0,05
Źródło: Opracowanie własne

Fot. 2A Skóra probanta przed wprowadzeniem aplikacji i wystawieniem skóry na wpływ promieniowania.

Źródło: Opracowanie własne

Fot. 2B Skóra po wprowadzeniu aplikacji i wystawieniu jej na wpływ promieniowania.

Źródło: Opracowanie własne

Fot. 3A Skóra probanta przed wprowadzeniem aplikacji i wystawieniem skóry na wpływ promieniowania

Źródło: Opracowanie własne

Fot. 3B Skóra po wprowadzeniu aplikacji i wystawieniu jej na wpływ promieniowania

Źródło: Opracowanie własne

W badaniu nie zauważono rumienia oraz skutków ubocznych aplikacji wyżej wymienionych kosmetyków w warunkach pełnego nasłonecznienia. Można zauważać, że skóra została dostatecznie ochroniona przed negatywnymi skutkami promieniowania słonecznego.

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej substancji aktywnych zawartych w badanych kosmetykach z wykorzystaniem rodnika DPPH^{*} (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl)

Obliczono wartość procentową inhibicji reakcji utleniania dla badanych kosmetyków serii (R-OXY i SOD-C) (rys. 8).

Serum R-OXY przeciwdziała reakcji utleniania w 56%, SOD-C serum w 76%, natomiast witamina C w 96%.

Na podstawie powyższych wyników można stwierdzić, że witamina C o stężeniu 2% ma największą zdolność do przeciwdziałania reakcji utleniania.

Rozjaśniające serum R-OXY zostało przebadane pod kątem przeciwdziałania reakcji utleniania oraz inhibicji aktywności tyrozynazy. Serum oparte jest na specjalistycznym kompleksie rozjaśniającym, antyoksydacyjnym i złuszczałym. W swoim składzie zawiera składniki aktywne: tj. oksyresweratrol, witamina C, kwas szikimowy, arbutyna oraz kwas kojowy (rys. 9).

Dwuprocentowe stężenie arbutyny przeciwdziałała w 64% aktywności tyrozynazy. Dwuprocentowa witamina C w 84% działa inhibicyjnie na aktywność tyrozynazy. Jednoprocentowy kwas kojowy oraz serum R-OXY w 100% przeciwdziałają aktywności tyrozynazy.

DYSKUSJA I WNIOSKI

W artykule zostały przedstawione badania potwierdzające synergistyczne działanie kosmetyków z filtrem oraz pielęgnacji antyoksydacyjnej w warunkach rzeczywistych.

Na podstawie pomiaru biofizycznych parametrów nawilżenia, transepidermalnej utraty wody, elastyczności, stopnia sebum, a przede wszystkim pomiaru wartości pH, potwierdzono dobroczynny wpływ badanej serii antyoksydacyjnej w połączeniu z produktem fotoochronnym. Wyniki potwierdzają jak ważna jest synergia produktów antyoksydacyjnych połączonych z produktem chroniącym przed słońcem.

Na podstawie badań aplikacyjnych (*in vivo*), które zostały przeprowadzone na skórze ochotników, potwierdzono skuteczność połączenia kosmetyków z filtrami z pielęgnacją antyoksydacyjną. Grupa 20 osób została poddana zabiegowi R-OXY, następnie przebywała w warunkach wysokiego nasłonecznienia (30-35°C). Przez okres tygodnia, badana grupa przez 8 godzin dziennie jeździła rowerem, przebywając cały czas w pełnym nasłonecznieniu. Następne pięć tygodni badani spędzili aktywnie poddając ciało ekspozycji na

Fot. 4A Skóra probanta przed wprowadzeniem aplikacji i wystawieniem skóry na wpływ promieniowania

Źródło: Opracowanie własne

Fot. 4B Skóra po wprowadzeniu aplikacji i wystawieniu jej na wpływ promieniowania

Źródło: Opracowanie własne

Rys. 8 Zdolność badania antyoksydantów w przeciwdziałaniu reakcji utleniania

Źródło: Opracowanie własne

Rys. 9 Wpływ badanych substancji na aktywność tyrozynazy

Źródło: Opracowanie własne

nadmierne nasłonecznienie. Należy pamiętać, że skóra osób rozpoczynających badanie była nieopalona po okresie zimowym. Zabieg R-OXY stanowił pierwszy krok przygotowania do wystawienia ciała na nadmierne działanie promieniowania. Natomiast pielęgnacja antyoksydacyjna oraz kosmetyki z filtrem stanowiły drugi etap przygotowania skóry do podróży w bardziej nasłonecznione rejon oraz korzystania z aktywności fizycznej na świeżym powietrzu. Przed rozpoczęciem doświadczenia, osobom uczestniczącym w badaniu został wykonany zabieg R-OXY. Na podstawie badań aplikacyjnych zmierzonych w pierwszym tygodniu jak i w ostatnim, zauważano następujące zmiany w zakresie stopnia nawilżenia, elastyczności, przeznaskórkowej utraty wody, natłuszczenia oraz wartości pH [7].

Na podstawie uzyskanych wyników można zauważyć, że wszystkie osoby które brały udział w badaniu posiadały lepsze wyniki parametru nawilżenia, pomimo ekspozycji ich skóry na nadmierną ilość promieni słonecznych.

W okresie pomiędzy przebywaniem w sprawdzanych warunkach gorącego powietrza a przebywaniem poza nimi, bariera hydrolipidowa była w stanie się odbudować, niestety im dłużej ochotnicy narażeni byli na nadmierną suchotę powietrza, tym dłużej bariera ochronna skóry regeneruje się i nie jest w stanie pełnić poprawnie swojej roli. Płaszcz hydrolipidowy, który stanowi podstawową ochronę skóry, pod wpływem gorącego powietrza zostaje osłabiony i nie jest w stanie poprawnie pełnić swoich funkcji. Dlatego też, należy pamiętać o dostatecznym nawilżeniu skóry poprzez zastosowanie produktów antyoksydacyjnych. Produkty te wzmacniają barierę hamującą utratę wody. Zmniejszenie parowania wody z naskórka jest bezpośrednio związane ze wzrostem jego nawilżenia. Za poprawę tego parametru w badanych kosmetykach mogą odpowiadać między innymi następujące związki:

- dysmutaza ponadtlenkowa czyli enzym neutralizujący wolne rodniki w celu ochrony DNA. W kosmetykach ma za zadania ochronę komórek naskórka podczas intensywnego stresu oksydacyjnego jakim jest wysiłek fizyczny, promieniowanie UV oraz zabiegi medycyny estetycznej polegające na złuszczeniu skóry;
- witamina B3 – niacynamid reguluje prawidłowy skład sebum dzięki czemu zmniejsza łojotok i zapobiega świeceniu się cery;
- mocznik 5% – składnik NMF (naturalnego czynnika nawilżającego w skórze) niezbędny do prawidłowego rogowacenia i utrzymania właściwego poziomu nawilżenia naskórka;
- D-Pantenol przyspiesza gojenie, łagodzi podrażnienia, poparzenia i alergię oraz nawilża [8].

Kolejny zmierzony parametr, jak już wspomniano, jest połączony z parametrem nawilżenia. Probandcy którym wykonywano pomiar TEWL po kontakcie z gorącym powietrzem charakteryzowali się odpowiednimi wartościami transepidermalnej utraty wody z naskórka – dzięki aplikacji odpowiednio dobranego kremu fotoochronnego oraz pielęgnacji antyoksydacyjnej. Skóra była u wszystkich probantów zdrowa. Za utrzymanie prawidłowej wartości TEWL odpowiadała między innymi witamina E, która jest niezbędnym antyoksydantem. Związek ten zapobiega utlenianiu lipidów w komórkach naskórka oraz cementu międzykomórkowemu. Na podstawie przeprowadzonego badania parametrów elastyczności, jak i natłuszczenia skóry, można wyciągnąć podobne wnioski, że synergistycznie dobrana pielęgnacja pomimo narażenia pacjentów na kilkugodzinne nasłonecznienie nie wpłynęła na badane parametry w sposób negatywny. Skóra nie przetruszczała się w nadmierny sposób, między innymi dzięki połączeniu niacynamidu, kwasu kojowego oraz ferulowego, które regulują

prawidłowy skład sebum – dzięki czemu zmniejszają łojotok i zapobiegają świeceniu się cery. Kwas traneksamowy oprócz działania rozjaśniającego przebarwienia, wykazuje szczególne właściwości przeciwświądowe i łagodzące stany zapalne skóry, a nawet alergiczne pokrzywki.

Najbardziej istotnym z badanych parametrów, była wartość pH skóry. Dokonano pomiarów wspomnianej wartości przed rozpoczęciem badań, a następnie po nałożeniu kremu fotoochronnego, jak i po aplikacji całej serii antyoksydacyjnej. Wyciągnięto bardzo istotne wnioski.

Na wartość pH naskórka mają wpływ czynniki endo- i egzogenne, takie jak np.: zbyt wysoka oraz niska temperatura, fosfolipaza A2, składniki NMF, składniki potu, łoju, metabolity bakterii, chemiczne związki organiczne i nieorganiczne aplikowane na skórę. Wydolność bariery naskórkowej warunkuje również obecność proteazy serynowej i cysteinowej warstwy rogowej. Prawidłowe złuszczenie naskórka uwarunkowane jest rozkładem białek w obrębie korneodesmosomów, gdzie proteazy serynowe regulują także poprzez syntezę lipidów warstwy rogowej. Prawidłowe pH skóry jest niezwykle istotne dla utrzymania jej w dobrej kondycji.

Zarówno zbyt kwaśne, jak i zbyt zasadowe pH, wpływa na rozregulowanie zachodzących w skórze procesów oraz zaburzenie funkcji barierowych. Jeśli wartość pH skóry twarzy jest za niska, zaczyna ona produkować większą ilość sebum, na skutek czego może dochodzić do jej przetruszczenia, pojawiania się zaskórników i niedoskonałości. W odwrotnym przypadku, jeśli pH jest zasadowe, skóra staje się przesuszona i skłonna do podrażnień. Należy pamiętać, że nadużywanie kremów chroniących skórę przed nadmiernym promieniowaniem słonecznym powoduje zmianę wartości pH na zasadowe. Należy zwrócić szczególną uwagę, aby aplikować te kosmetyki w warunkach dużego nasłonecznienia, wtedy kiedy powinny rzeczywiście chronić skórę człowieka przed szkodliwym promieniowaniem. Przeprowadzone badania potwierdziły, że stosowanie kosmetyków ochronnych SPF przyczynia się do podniesienia wartości pH skóry. Dlatego tak istotne jest holistyczne połączenie fotoochrony z pielęgnacją antyoksydacyjną, która tę wartość obniża, dzięki temu wartość pH skóry jest odpowiednia. Podniesienie wartości pH skóry powyżej 6,0 powoduje uszkodzenie bariery hydrolipidowej do 6 godzin po aplikacji, zanim wartość ta powróci do swojej naturalnej wartości średnio poniżej 5,0. Wykazano że skóra o pH poniżej 5,0 jest w lepszym stanie niż skóra o pH powyżej 5,0, na co wskazuje pomiar biofizycznych parametrów funkcji barierowej, nawilżenia i elastyczności. Oceniono również wpływ pH na adhezję rezydentnej mikroflory skóry – kwaśne pH skóry (4,0-4,5) utrzymuje obecną florę bakteryjną przyczepioną do skóry, podczas gdy zasadowe pH (8,0-9,0) sprzyja jej rozprzestrzenianiu się ze skóry [9].

Podsumowując – zastosowanie filtrów, ale w połączeniu z pielęgnacją wstępną w postaci zabiegu mającego na celu

obniżenie wartości pH naskórka oraz z aplikacją serii antyoksydacyjnej, skutecznie chroni przed przedawkowaniem promieni słonecznych, nawet podczas 8-godzinnej ekspozycji na pełnym słońcu. Przedstawione wyniki osiągnięto głównie dzięki użytym antyoksydantom, których zdolność w przeciwdziałaniu reakcji utleniania została udowodniona. W badaniu zastosowano głównie połączenie oksyresweratrolu oraz 3-O etylu kwasu askorbinowego.

Na podstawie wyników badanych substancji można stwierdzić, że kwas kojowy 1% oraz serum R-OXY działają najsilniej, ponieważ w 100% hamują aktywność tyrozynazy. Najsłabsze działanie inhibicyjne na aktywność tyrozynazy spośród badanych substancji wykazała 2% arbutyna. Testy hamowania aktywności tyrozynazy mogą w znaczący sposób przyczynić się do wykazania jakości działania produktu kosmetycznego dzięki weryfikacji korzystnego oddziaływania dla całego kosmetyku. Powyższe badania potwierdzają zdolność produktu do hamowania tyrozynazy. Zawarte w serum substancje aktywne przyczyniają się do rozjaśniania skóry oraz redukcji przebarwień. Codzienna systematyczna pielęgnacja produktami o potwierdzonym działaniu na proces melanogenezy jest skuteczna w celu utrzymania dobrej kondycji skóry.

Oksyresweratrol, który jest innowacyjną pochodną resweratrolu o silnym działaniu rozjaśniającym i niwelującym wolne rodniki, chroni skórę przed fotostarzeniem i zwiększa odporność komórek na szkodliwe warunki środowiskowe [10]. Witamina C (3-O etylowy kwas askorbinowy) jest najnowszą postacią witaminy C stosowaną w kosmetykach. Charakteryzuje się wysoką trwałością i biokompatybilnością dla skóry. Obecność witaminy C w kremie uzupełnia jej niedobory w naskórku, dzięki czemu wspomaga naturalne procesy antyoksydacyjne chroniące cenne lipidy przed utlenianiem. Proces ten polega na regeneracji naturalnie występującej witaminy E, która jest niezbędna dla utrzymania prawidłowej bariery lipidowej skóry narażonej na nadmierną ekspozycję słoneczną. Kwas szikimowy wykazuje silne działanie antyoksydacyjne, złuszcza i regeneracyjne, spowalnia proces starzenia skóry. Chroni przed negatywnym wpływem promieniowania słonecznego oraz zanieczyszczeniem powietrza. Kwas kojowy redukuje plamy pigmentacyjne, rozjaśnia koloryt skóry

i zwalcza przebarwienia. Posiada właściwości antybakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwutleniające. Natomiast ester kwasu ferulowego charakteryzuje się działaniem antyoksydacyjnym, łagodzącym oraz przeciwbakteryjnym. W recepturze została użyta dysmutaza ponadtlenkowa czyli enzym, neutralizujący wolne rodniki w celu ochrony DNA. W kosmetykach ma za zadanie ochronę komórek naskórka podczas intensywnego stresu oksydacyjnego jakim jest wysiłek fizyczny, promieniowanie UV oraz zabiegi medycyny estetycznej polegające na złuszczeniu skóry. Witamina E – niezbędny antyoksydant, który zapobiega utlenianiu lipidów w komórkach naskórka oraz cementu międzykomórkowemu.

Przeprowadzone badania potwierdziły stawiane założenia, że skuteczną, nieinwazyjną ochronę przeciw negatywnym skutkom promieniowania słonecznego można osiągnąć tylko dzięki połączeniu ochrony przeciwsłonecznej z aplikacją produktów antyoksydacyjnych, które poprawiają parametry biofizyczne skóry niezależnie od warunków na które byli narażani probanci.

LITERATURA / REFERENCES

1. Kilian-Pięta E, Hoppe E. Wpływ melanogenezy na powstawanie przebarwień. *Kosmetologia Estetyczna*. 2019;4(8):419-422.
2. Miller AJ, Tsao H. New insights into pigmentary pathways and skin cancer. *BJD*. 2010;1:22. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09565>
3. Janda M, Green AC. Reliability of computer image analysis of pigmented skin lesions of Australian adolescents. *Cancer*. 2010;2:252-257. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19960715\)78:2<252](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19960715)78:2<252)
4. Antolovich M, Prenzler PD, et al. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002;127:183-198. <https://doi.org/10.1039/B009171P>
5. Darleński R, Sassning S, Tsankov N, et al. Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009;72:295-303. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.11.014>
6. Brand-Williams JW, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*. 1995;1:25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
7. Igielska-Kalwat J, Gościńska J, Nowak I. Karotenoidy jako naturalne antyoksydanty. *Postępy Hig Med Dosw*. 2015;69:418-428.
8. Igielska-Kalwat J, Gościńska J, Witkowska B, et al. In vivo studies of substances used in the cosmetic industry. *Advances in Dermatology and Allergology*. 2016;3:163-167. <https://doi.org/10.5114/ada.2016.60607>
9. Zieliński H, Kozłowska H. Superoxide scavenging activity of cereal grains before and after hydrothermal processing. *Pol J Food Nutr Sci*. 2000;9:85-90.
10. Igielska-Kalwat J, Firlej M, Lewandowska A, Biedziak B. In vivo studies of resveratrol contained in cosmetic emulsions. *ABP*. 2019;66:371-374. https://doi.org/10.18388/abp.2019_2838

otrzymano / received: 15.07.2021 | poprawiono / corrected: 29.07.2021 | zaakceptowano / accepted: 14.08.2021