

dr n. o zdr. inż. Anna Ratz-Łyko

Zakład Chemii Kosmetycznej Wyższej Szkoły Zawodowej Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia w Warszawie

Kierownik Zakładu: dr n. chem. Jacek Arct, prof. WSZKiPZ

Charakterystyka i właściwości przeciwstarzeniowe resweratrolu

W przeciwdziałaniu procesom starzenia się skóry bardzo ważną rolę odgrywają przeciwutleniacze z grupy polifenoli, które na drodze neutralizacji wolnych rodników, działania przeciwutleniającego i zdolności do chelatowania jonów metali przejściowych mogą skutecznie zmniejszać poziom mediatorów stanów zapalnych i wpływać na ograniczenie aktywności macierzowych metaloproteinaz. Jednym z polifenoli o działaniu przeciwstarzeniowym jest resweratrol, występujący w dużej ilości w czerwonych winogronach i owocach jagodowych.

Związek ten wykazuje szereg udowodnionych naukowo właściwości prozdrowotnych związanych z pozytywnym wpływem na układ sercowo-naczyniowy, obniżeniem stężenia lipoprotein o niskiej gęstości i zdolności do zahamowania aktywności cyklooksygenazy. Ponadto wykazuje właściwości przeciwdrobnoustrojowe, antyproliferacyjne, przeciwzapalne, antyangiogenne, przeciwstarzeniowe oraz przeciwrodnikowe i przeciwutleniające. Obecnie jest coraz częściej stosowany w profilaktyce fotostarzenia skóry.

Charakterystyka resweratrolu

Resweratrol (trans-3,4',5-trihydroksystilben) (CAS N°: 501-36-0, nazwa INCI: Resveratrol, masa molowa 228,25 g/mol) to polifenolowa fitoaleksyna, syntetyzowana

przez rośliny w odpowiedzi na czynniki stresogenne i infekcje grzybicze. Występuje w dwóch formach izomerycznych cis-3,4',5-trihydroksystilben i trans-3,4',5-trihydroksystilben, przy czym aktywna biologicznie jest forma trans-. Bogatym, naturalnym źródłem resweratrolu są czerwone winogrona, czerwone wino, owoce jagodowe (tj. żurawina, borówka, czarna porzeczka, truskawki, maliny), orzeszki ziemne oraz korzeń rdestu japońskiego (*Polygonum cuspidatum*)^[1-3]. Resweratrol do celów przemysłowych pozyskiwany jest najczęściej drogą syntezy chemicznej lub biotechnologicznej z wykorzystaniem drożdży z gatunków *Saccharomyces cerevisiae* lub *Pichia pastoris* (nazwa INCI: *Pichia/Resveratrol Ferment Extract*). W kosmetologii resweratrol jest stosowany jako składnik aktywny o działaniu przeciwrodnikowym i przeciw-

utleniającym, najczęściej jako czysty związek w stężeniu do 5%, ekstrakt z winorośli właściwej [nazwa INCI: *Vitis Vinifera (Grape) Vine Extract*; *Vitis Vinifera (Grape) Leaf Extract*] lub produkt fermentacji drożdży z rodzaju *Pichia* w stężeniu do 10%^[4,5].

Dowiedziano, że resweratrol ze względu na obecność grupy hydroksylowej w pierścieniu B może aktywnie neutralizować i przeciwdziałać powstawaniu reaktywnych form tlenu, a w warunkach *in vitro* jest skutecznym neutralizatorem syntetycznych rodników DPPH i AAPH^[6]. W badaniach *in vitro* z wykorzystaniem testu zdolności pochłaniania reaktywnych form tlenu (*Oxygen Radical Absorbance Capacity* – ORAC) resweratrol wykazał 17-krotnie wyższą aktywność przeciwrodnikową (4845 μ mole witaminy E/g) w porównaniu z syntetycznym analogiem koenzymu Q10 – idobenonem (279 μ mole witaminy E/g)^[7]. Natomiast zbadana aktywność przeciwrodnikowa resweratrolu w stosunku do rodników nadtlenkowych była wyższa niż katechin oraz kwasu galusowego i elagowego (resweratrol > katechina > epikatechina = gallokatechiny > kwas galusowy = kwas elagowy)^[8]. Jak udowodniono, resweratrol może przeciwdziałać procesom peroksydacji lipidów i utlenianiu protein, a jego aktywność przeciwutleniająca (95%) jest wyższa niż witaminy E (65%) i C (37%)^[9]. Ponadto w warunkach *in vitro* udowodniono, że resweratrol wpływa na redukcję syntezy tłuszczu w wątrobie szczurów oraz nieselektywnie hamuje aktywność cyklooksygenazy-1 i 2 (COX-1 i COX-2) i indukowanej syntazy tlenku azotu (iNOS), a także hamuje syntezę tromboksanu A₂ w leukocytach szczurów. Natomiast wraz z kwercetyną może wpływać na zahamowanie uwalniania interleukiny-8 (IL-8) z ludzkich komórek nabłonka oddechowego, a także obniża aktywność czynnika martwicy nowotworów (TNF- α) i wpływa na inaktywację białka NF- κ B (czynnik transkrypcyjny κ B), przez co ogranicza stan zapalny^[10,11].

Właściwości przeciwstarzeniowe resweratrolu

Do niezwykle ciekawych i obiecujących właściwości resweratrolu należy działanie przeciwstarzeniowe. Według opublikowanych w 2003 roku badań Howitza i wsp. związek ten może przedłużyć życie komórek drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*^[12]. Jak zaobserwowali autorzy, u różnych organizmów ograniczenie kalorii spowalnia tempo starzenia się i zwiększa przeżywalność. W przypadku drożdży pączkujących z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* związane jest to ze wzrostem aktywności białka z rodziny syrtuin-Sir2 (*Silent information regulator-2*), będącego enzymem należącym do NAD⁺-zależnych deacetylaz, których strukturalnym odpowiednikiem w organizmie ssaków jest białko SIRT1^[13]. Jak dowiedziano na przykładzie drożdży, syrtuiny pełnią funkcję czynników regulujących tempo starzenia organizmu. Białka Sir są odpowiedzialne za wyłączenie aktywności transkrypcyjnej chromatyny, homologii Sir2, mogą uczestniczyć w naprawie DNA oraz mogą funkcjonować jako represory genów odpowiedzialnych za adipogenezę i magazynowanie tłuszczów w komórkach, natomiast sirtuina SIRT1 bierze udział w deacetylacji peptydu p53, chroniąc komórki przed śmiercią apoptotyczną zależną od p53^[12,14]. Dowiedziano, że resweratrol może wpływać na aktywność sirtuin. Wykazano, że resweratrol może przedłużać życie drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* o około 70%, co prawdopodobnie związane jest ze stymulacją białka Sir2 i jego wpływem na ograniczenie pobieranych kalorii i redukcją tkanki tłuszczowej. Natomiast w warunkach *in vitro* resweratrol wpływał na zwiększenie aktywności ludzkiej sirtuiny SIRT1, chroniąc komórki przed śmiercią apoptotyczną^[12,15]. Ponadto wykazano, że resweratrol stymuluje

ekspresję i multimeryzację adiponektyny w komórkach tłuszczowych poprzez aktywację białka DsbA-L, zapobiegając tym samym otyłości^[16].

Resweratrol może również chronić skórę przed procesem fotostarzenia. W badaniach *in vivo* przeprowadzonych na bezwłosych myszach zaobserwowano, że jednorazowe zastosowanie resweratrolu przed ekspozycją na promieniowanie UVB wpływa istotnie na zmniejszenie obrzęku skóry i zmniejszenie indukowanego promieniowaniem UVB wytwarzania H_2O_2 , a także może ograniczać proces peroksydacji lipidów oraz wpływać na zmniejszenie nacieków leukocytowych^[17]. Ponadto w warunkach *in vitro* z zastosowaniem hodowli normalnych ludzkich keratynocytów zaobserwowano, że resweratrol wpływa na zahamowanie aktywacji szlaku NF- κ B indukowanego promienio-

waniem UVB^[18]. Czynnikiem transkrypcyjnym kappą B (NF- κ B) jest białkiem biorącym udział w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej i patogenezie procesów obronnych i zapalnych organizmu. Występuje naturalnie w cytoplazmie większości komórek w formie nieaktywnej, tworząc kompleks z białkami prekursorowymi p50 i p65 oraz białkami hamującymi I κ B. W procesie aktywacji NF- κ B biorą udział wolne rodniki i reaktywne formy tlenu (zwłaszcza H_2O_2), cytokiny (IL-1 β , IL-2, IL-17, IL-18, TNF- α), promieniowanie UV, zwłaszcza UVB, chorobotwórcze bakterie i wirusy, które aktywują kinazy MAPK, MEK 1,2,3, kinazę białkową Akt oraz kompleks kinaz I κ B, katalizujący fosforylację, ubikwintynację i proteolizę białek I κ B. W wyniku tego procesu dochodzi do uwolnienia czynnika transkrypcyjnego NF- κ B i przeniesienia do jądra komórkowego,

gdzie uczestniczy w transkrypcji genów prowadzących do odpowiedzi zapalnej komórki. Proces ten może być zahamowany dzięki aktywności polifenoli, które mają zdolność do inhibicji kinaz I κ B, a tym samym blokują proces fosforylacji i degradacji I κ B oraz ograniczają ekspresję prozapalnych cytokin TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8. Aktywność ta została udowodniona w warunkach *in vitro* dla m.in. resweratrolu^[19,20]. Jak wykazano, resweratrol może skutecznie wpływać na ochronę ludzkich keratynocytów, ograniczając ekspresję NF- κ B spowodowaną działaniem promieniowania UVB poprzez ograniczenie fosforylacji i degradacji I κ B^[18,21,22].

Dodatkowo w badaniach *in vitro* z zastosowaniem linii komórek HaCaT wykazano, że resweratrol chroni keratynocyty przed działaniem promieniowania UVA. Pod wpływem promieniowania UVA i innych czynników stresogennych dochodzi do powstawania wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, zwłaszcza anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenku wodoru, co prowadzi do stresu oksydacyjnego^[7,23]. W jego wyniku dochodzi do uwolnienia z keratynocytów IL-1 i TNF- α . Prowadzi to do aktywacji kinaz MAPK, które pobudzają syntezę składowych kompleksu czynnika transkrypcyjnego AP-1 i aktywują czynnik NF- κ B. Skutkiem tego jest indukcja aktywności macierzowych metaloproteinaz, co prowadzi do zakłócenia wewnętrzcytoplazmatycznych szlaków przekazywania sygnałów odpowiedzialnych za ekspresję genów regulujących proces syntezy kolagenu w fibroblastach. W wyniku tego procesu dochodzi do uszkodzenia białek fibrylarnych skóry poprzez degradację kolagenu typu I i III oraz przerostu i rozkładu elastyny oraz kwasu hialuronowego^[24,25]. Mechanizm ochronnego działania resweratrolu związany jest z jego zdolnością do przeciwdziałania powstawaniu wolnych rodników i reaktywnych form tlenu oraz za-

pobiegania procesom utleniania lipidów. Wykazano, że związek ten wpływa na żywotność keratynocytów i ich zdolności proliferacyjne, wpływa na zmniejszenie stężenia aldehydu dimalonowego, a także chroni antyoksydacyjne enzymy komórkowe, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa i peroksydaz glutationowa^[23]. Ponadto wpływa na ograniczenie ekspersji czynników transkrypcyjnych AP-1 i NF- κ B, ograniczając proces degradacji kolagenu i elastyny oraz stany zapalne skóry. Z tego względu resweratrol może być stosowany jako składnik aktywny kosmetyków przeciwstarzeniowych, chroniących skórę przed procesem fotostarzenia^[7,23,26].

Specyficzna budowa i właściwości resweratrolu sprawiają, że wykazuje on w warunkach *in vitro* podobieństwo strukturalne do syntetycznego estrogenu (dietylostilbestrolu) oraz powinowactwo do białkowych receptorów estrogenowych (ER). Zdolność do wiązania się z receptorami estrogenowymi (zarówno ER α , jak i ER β) ma również znaczenie w kosmetyce przeciwstarzeniowej^[26,27]. Receptory ER β w skórze występują na keratynocytach, melanocytach, komórkach dendrytycznych oraz śródbłonku naczyń. Ich rola związana jest z wpływem na proliferację i różnicowanie keratynocytów, ułatwiają prawidłową adhezję keratynocytów, powstawanie ziaren keratohialinowych, hamują powstawanie IL-12 i TNF- α , a także regulują wydzielanie melaniny. Natomiast receptory ER β zlokalizowane są na fibroblastach i makrofagach. Biorą udział w procesie stymulacji produkcji kolagenu typu I i II poprzez wpływ na wydzielanie transformującego czynnika wzrostu (TGF- β 1) oraz zasadowego fibroblastycznego czynnika wzrostu (bFGF), dodatkowo wpływają na wytworzenie macierzy zewnątrzkomórkowej. Aktywacja receptorów ER odbywa się poprzez przyłączenie 17 β -estradiolu do re-

ceptorów reagujących na estrogen lub jego interakcji z proteinowymi czynnikami transkrypcyjnymi NF- κ B lub AP-1, co w rezultacie prowadzi do transkrypcji genów reagujących na estrogen. Podobieństwo strukturalne do estrogenów jest cechą znaną dla niektórych związków polifenolowych z grupy flawonoidów, występujących w postaci aglikonów, zwłaszcza izoflawonów (genisteina, daidzeina, biochanina A, formononetyna) i stilbenów (resweratrol). W warunkach *in vitro* dla większości z wymienionych ligandów zaobserwowano wyższe powinowactwo do receptorów ER β niż ER α , jednak ich aktywność jest o wiele słabsza w porównaniu z estrogenami steroidowymi (0,005-2%). Natomiast niektóre z badań wykazały, że resweratrol, ze względu na podobieństwo strukturalne do dietylostilbestrolu, charakteryzuje się wyższym powinowactwem do receptorów typu alfa^[27,28]. Może więc po związaniu się z receptorem ER α wpływać na wzrost produkcji kolagenu w fibroblastach, co ma znaczenie w kosmetyce anti-age^[26]. Dodatkowo badania przeprowadzone przez Bowersa i wsp.^[28] wykazały, że resweratrol wykazuje mieszaną agonistyczno--antagonistyczną aktywność w stosunku do recep-

tora estrogenowego α i β . Zaobserwowano, że tkanki, w których ekspresja ER β jest większa niż ER α mogą być bardziej wrażliwe na działanie resweratrolu jako agonisty receptora estrogenowego. Dla resweratrolu, kwasu elagowego, galusanu 3-(-)-epigalokatechiny w warunkach *in vitro* wykazano zdolność blokowania receptorów ER, a tym samym aktywność przeciwestrogenną, co wiąże się z chemoprewencją nowotworów. Zaobserwowano, że resweratrol m.in. hamuje wiązanie estradiolu do receptora estrogenowego w ludzkich komórkach raka sutka^[29,30].

Działanie przeciwstarzeniowe resweratrolu zaobserwowano także w warunkach *in vivo*^[31]. Podczas badań klinicznych prowadzonych przez 12 tygodni na grupie 55 kobiet w wieku 40-60 lat zaobserwowano, że stosowanie kremu na noc zawierającego resweratrol (1%), bajkalinę (0,5%) i witaminę E (1%) może wpłynąć na poprawę kondycji skóry poprzez ograniczenie zmian spowodowanych procesem fotostarzenia. Kliniczna ocena wykazała statystycznie znaczącą poprawę jędrności i elastyczności skóry, wygładzenie drobnych zmarszczek i zmniejszenie przebarwień skóry po 12 tygodniach stosowania

preparatu. Pomiary USG w obszarze okołooczołowym wykazały poprawę grubości skóry o 18,9%. Opisujący efekt działania preparatu zawierającego resweratrol, bajkalinę i witaminę E związany jest przede wszystkim z wysoką aktywnością przeciwrodnikową wymienionych składników kosmetyku oraz z ich wpływem na ekspresję genów, takich jak hemooksygenaza-I (HO-1), czynnik wzrostu śródbłonka naczyń (VEGFA) i kolagen III (COL3A1)^[31]. W skórze poddanej działaniu badanego preparatu zaobserwowano wzrost ekspresji hemooksygenazy-I, która chroni komórkę przed cytotoksycznym działaniem wolnych rodników. Ekspresja hemooksygenazy-I aktywuje czynnik transkrypcyjny Nrf2, wiążący się z elementem odpowiedzi antyoksydacyjnej (ARE) jądrowego DNA, kodującego enzymy II fazy glutatio-no-S-transferazę i oksydoreduktazę NAD(P)H: chinon I (NQO1)^[7,32]. Aktywacja Nrf2 i ARE stanowi więc ważny etap w procesie odpowiedzi antyoksydacyjnej komórki. Dzięki niemu dochodzi do ekspresji genów kodujących białka o działaniu cytoprotekcyjnym, które neutralizują elektrofilowe metabolity powstające w wyniku przemian ksenobiotyków, wolne rodniki i reaktywne formy tlenu, a także stabilizują potencjał oksydoredukcyjny komórki^[33,34]. W skórze poddanej działaniu badanego

preparatu zaobserwowano spadek ekspresji czynnika wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF), co wpłynęło bezpośrednio na zmniejszenie przepuszczalności naczyń krwionośnych, a tym samym spadek zaczerwienienia skóry probantów oraz ograniczenie stanów zapalnych. Dodatkowo po 12 tygodniach używania badanego preparatu zaobserwowano w skórze probantów niewielki wzrost produkcji kolagenu typu III. Badania te potwierdzają, że miejscowe stosowanie resweratrolu, bajkaliny i witaminy E może wpłynąć na ograniczenie procesu starzenia skóry^[31].

Podsumowanie

Resweratrol jest surowcem roślinnym występującym głównie z winogronach, czerwonym winie oraz niektórych owocach jagodowych. Jego szerokie spektrum właściwości (przeciwdrobnoustrojowe, antyproliferacyjne, przeciwzapalne, antyangiogenne, przeciwstarzeniowe oraz przeciwrodnikowe i przeciwutleniające) sprawia, że jest stosowany w kosmetykach anti-age, głównie w profilaktyce fotostarzenia skóry. Udowodniona naukowo aktywność biologiczna resweratrolu pozwala przypuszczać, że będzie on również coraz częściej wykorzystywany w farmacji i medycynie.

Piśmiennictwo u Autora

Wydawca:

Agencja Reklamowa LION-ART Dorota Piech
ul. Staromiejska 2/13, 40-013 Katowice
tel./fax: 32 253-02-88, 32 253-60-89
<http://www.lion-art.com.pl>
e-mail: office@lion-art.com.pl

Redakcja:

Redaktor naczelny: dr n. farm. Sławomir Wilczyński
Redaktorzy: Maria Zagdańska, Hanna Majewska
<http://www.aesthetica.com.pl>
e-mail: redakcja@aesthetica.com.pl

Dyrektor ds. wydawniczych:

Maria Zagdańska – tel. 514 962 496
mariazagdanska@aesthetica.com.pl

Sekretarz redakcji:

Agata Marut-Zaczek – tel. 32 201 60 17
agatamarut@aesthetica.com.pl

Specjalista ds. marketingu:

Joanna Kowalik – tel. 508 494 186
joannakowalik@aesthetica.com.pl

Skład komputerowy i opracowanie reklam:

Sławomir Jędrzyśiak, Eugeniusz Kotalczyk,
Krzysztof Lubos
e-mail: dtp@lion-art.com.pl

Współpraca:

Prof. zw. n. tech. dr hab. n. fiz. inż. lek. med. Halina Podbielska
Prof. dr hab. n. med. Paweł Surowiak
Prof. dr hab. n. med. Anna Wojas-Pelc
Dr n. med. Agnieszka Bańka-Wrona
Dr n. med. Artur Bocian, Dr n. med. Anna Deda
Dr n. med. Inge Matthiesen, Dr n. med. Kirsten Peters
Dr n. med. Wojciech Rybak, Dr n. med. Monika Paul-Samojedny
Dr n. med. Achim Salomon, Dr n. med. Justyna Sicińska
Dr inż. Iwona Hołowacz, Dr n.o zdr. inż. Anna Ratz-Łyko
Lek. med. Piotr Drozdowski, Lek. med. Przemysław Jasnowski
Lek. med. Hans-Dieter Kleine, Lek. med. Diana Kupczyńska
Lek. med. Katarzyna Podolec, Lek. med. Ewa Ring
Lek. med. Ewa Rybicka, Lek. med. Klaus Ueberreiter
Mgr Nicole Harzmann, Mgr Juliane Meyer
Stefanie Adam, Raphi Shavit

Korekta:

Agnieszka Łapajska