

mustela®

Receptury opracowane
pod kontrolą dermatologiczną
i przetestowane przez
pediatrów

Ekspert w pielęgnacji skóry dziecka *Od chwili narodzin*



DOSSIER NAUKOWE

**Nowe, istotne odkrycia związane ze skórą niemowlęcia
od pierwszych dni jego życia**

EXPANSCIENCE®
LABORATOIRES

Publikacja w
British Journal
of Dermatology

Mustela®. Ekspert w pielęgnacji skóry dziecka i przyszłej mamy od ponad 60 lat.



Szanowni Koleżanki i Koledzy,

Badacze z Działu Innowacji, Badań i Rozwoju (IRD) w Laboratoires Expanscience, specjaliści zajmujący się skórą niemowląt od ponad trzech pokoleń, z dumą prezentują Państwu program badawczy EV.E.I.L.S. (EValuation of Early Infant Life: Skin*).

Po przeanalizowaniu aktualnego stanu wiedzy na temat pielęgnacji skóry dziecka, Laboratoires Expanscience postanowiło przyjrzeć się dokładniej fizjologii skóry noworodka od pierwszych dni jego życia. W tym celu, Dział ds. Innowacji, Badań i Rozwoju zaangażował cieszących się międzynarodowym uznaniem naukowców.

Wspomniany program badawczy, prowadzony od dziesięciu lat jako jedyny tego typu na świecie, koncentruje się na innowacyjnych i nieinwazyjnych technologiach. Doprowadził do ważnych odkryć związanych z barierą i nawilżeniem skóry, a także komórkami macierzystymi naskórka u niemowląt od pierwszych chwil życia.

Działając w oparciu o wyniki nowych badań, i dążąc do zapewnienia skórze dziecka wszystkiego, czego potrzebuje do ochrony i rozwoju, centrum badawczo-rozwojowe opracowało Avocado Perseose® - ekskluzywny, naturalny i biomimetyczny aktywny składnik, pochodzący z awokado.

Avocado Perseose® wykazał swoje działanie *in vitro* od powierzchni skóry aż po komórki macierzyste naskórka. Wzmacnia ono barierę ochronną skóry, pomaga utrzymać poziom nawilżenia i zachować zasoby komórek macierzystych naskórka.

W chwili obecnej, Mustela® jest w stanie przedstawić ofertę klinicznie przetestowanych produktów nowej generacji do pielęgnacji skóry, działających w idealnej harmonii ze skórą dziecka, zapewniających jednocześnie maksymalną tolerancję i ukierunkowaną skuteczność.

Z poważaniem

Philippe Msika
Dyrektor ds. Innowacji,
Badań i Rozwoju
przy Laboratoires Expanscience



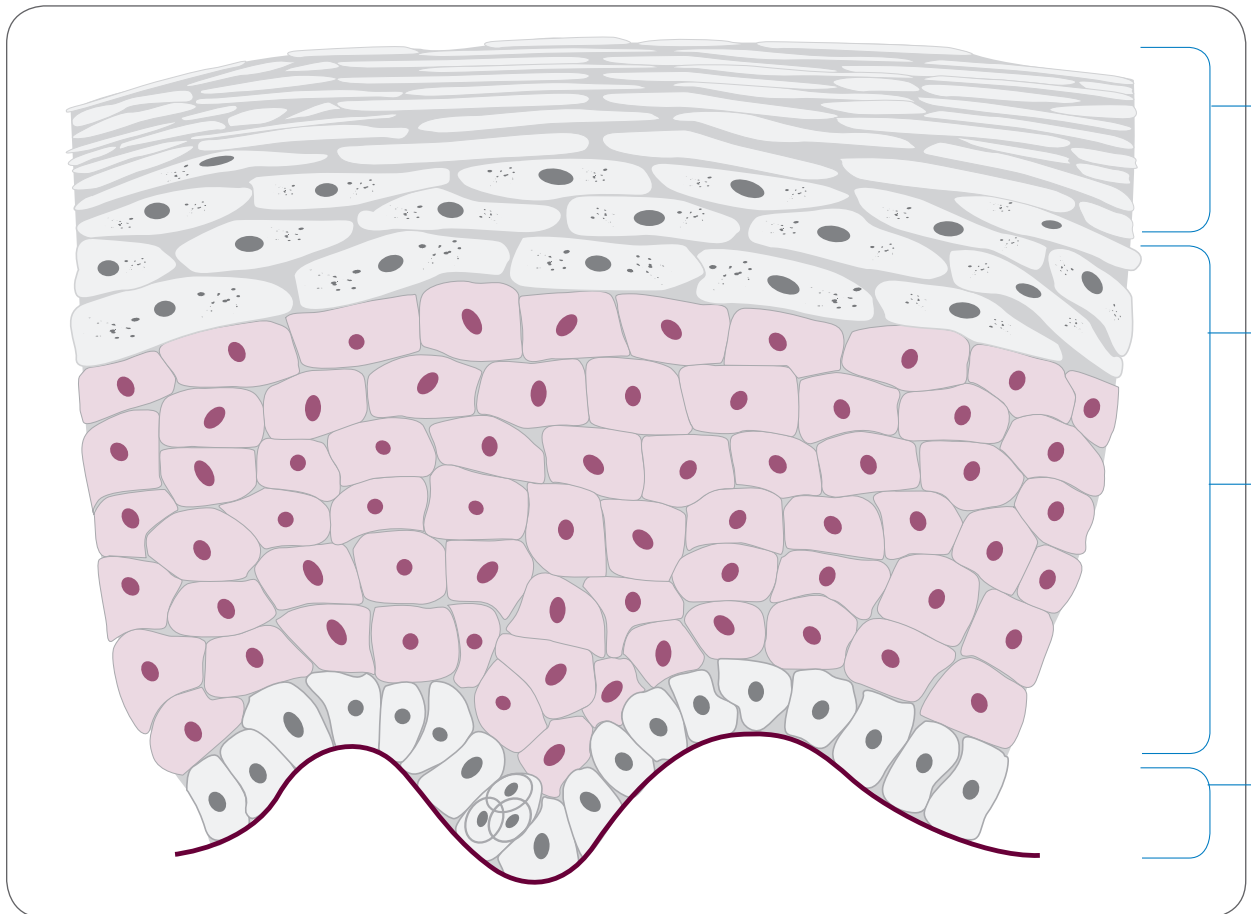
S P I S T R E Ś C I



	Informacje wstępne o skórze	strona 6
1	Opublikowana wiedza na temat skóry dziecka	strona 11
2	EV.E.I.L.S [Evaluation of the Early Infant life: the Skin]: Bezprecedensowy na skalę światową, fundamentalny program badawczy	strona 15
	A. Innowacyjne i etyczne technologie badawcze	
	a. Skaningowa mikroskopia elektronowa	
	b. Spektroskopia Ramana	
	c. Analiza modeli naskórka i DNA genomowego <i>in vitro</i>	
	B. Trzy istotne odkrycia dotyczące skóry dziecka w wieku od 0 do 2 lat	
	a. Odkrycie związane ze strukturą <i>Stratum corneum</i>	
	b. Odkrycie związane z dystrybucją czynników nawilżających w <i>Stratum granulosum</i>	
	c. Odkrycie związane z komórkami macierzystymi w <i>Stratum germinativum</i>	
3	Składnik aktywny nowej generacji: Avocado Perseose®	strona 31
	A. Działanie rozciągające się od <i>Stratum corneum</i> aż do <i>Stratum germinativum</i>	
	B. Unikalny, opatentowany proces ekstrakcji	
	C. Odpowiedzialny i etyczny łańcuch dostaw	
4	Receptura: nowe wyzwanie technologiczne	strona 43
	A. Wprowadzenie Avocado Perseose® do wszystkich receptur	
	B. Zachowanie maksymalnego bezpieczeństwa, nieszkodliwości i tolerancji produktów	
	C. Zapewnienie wysokiej jakości sensorycznej	
	D. Zgodność ze strategią odpowiedzialności za środowisko naturalne	
5	Podsumowanie	strona 47
6	Literatura	strona 50

Informacje wstępne o skórze

Skóra jest bardzo istotnym narządem, który pokrywa i chroni ciało. Jej główna funkcja polega na ochronie przed szkodliwym działaniem środowiska (mechanicznym, termicznym, chemicznym, zakażeniami mikrobiologicznymi i promieniowaniem UV) oraz kontroli utraty wody. Tę funkcję „bariery ochronnej” pełni naskórek, a zwłaszcza jego zrogowaciała warstwa - warstwa rogowa naskórka (*Stratum corneum*).



Naskórek to warstwowy nabłonek, składający się z 4 głównych warstw:

- **Rogowej (*Stratum corneum*):**

najbardziej zewnętrznej warstwy posiadającej strukturę „cegły i zaprawy”. Zbudowana z bezjądrzastych korneocytów (reprezentujących „cegły”) i lipidów (tworzących „zaprawę”), *Stratum corneum* spełnia głównie funkcję ochronną.

- **Ziarnistej (*Stratum granulosum*)**

oraz

- **Kolczystej (*Stratum spinosum*):**

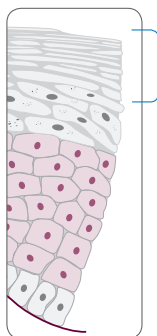
w których keratynocyty wytwarzają ciała Odlanda i ziarenka keratohialiny, niezbędne do wytwarzania – odpowiednio – lipidowego „cementu” i uwodnienia skóry.

Ciała Odlanda stanowią - między innymi - składnik lipidowego cementu w *Stratum corneum*.

Ziarenka keratohialiny pobudzają naturalne czynniki nawilżające NMF (Natural Moisturising Factors).

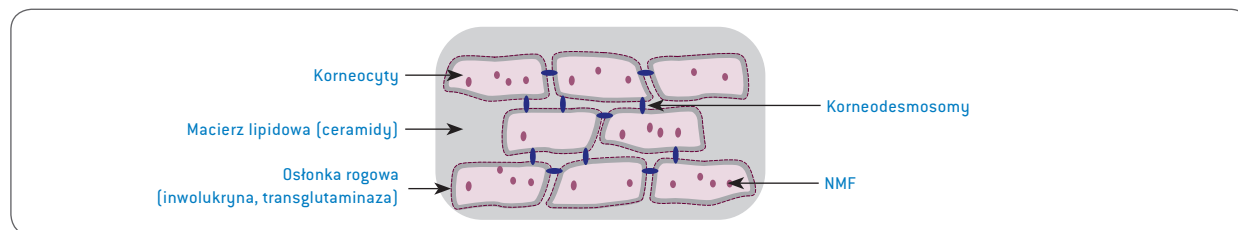
- **Podstawnej (*Stratum germinativum*):**

która stanowi najgłębszą warstwę naskórka, i składa się z jednej warstwy proliferujących keratynocytów oraz podstawnych komórek macierzystych; jest odpowiedzialna za integralność naskórka podczas jego cyklu życia i całego życia jednostki.



OMÓWIENIE *STRATUM CORNEUM*, PEŁNIĄCEJ ROLĘ BARIERY

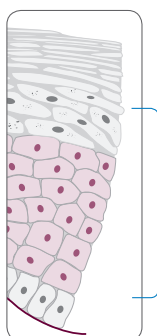
Modelowy schemat *Stratum corneum*



Jej model jest powszechnie porównywany do „cegieł i zaprawy”, i składa się z:

- **Korneocytów**, beźądrzastych komórek, których osłona rogowa jest strukturą złożoną z błony proteinowej i lipidowej.
- **Lipidowej warstwy cementującej**, składającej się z równomolowej mieszaniny ceramidów (stanowiących od 40 do 50% jej całkowitej masy), cholesterolu (20-25%) i wolnych kwasów tłuszczowych (10-20%), która pełni rolę spoiwa komórek. Obecnie uznaje się, że struktura korneocytów i układ podwójnej warstwy lipidowej stanowi bardziej złożoną, dynamiczną barierę niż prosty ceglany mur.
- **Korneodesmosomów**, które również odgrywają istotną rolę w zachowaniu spójności *Stratum corneum*. Korneodesmosomy to połączenia międzykomórkowe, specyficzne dla warstwy rogowej, a ich zadaniem jest wiązanie korneocytów.

Korneodesmosomy składają się głównie z białek, takich jak desmogleina-1, desmokolina-1 i korneodesmosyna.



OMÓWIENIE *STRATUM GRANULOSUM* I *STRATUM SPINOSUM*, KTÓRE ODGRYWAJĄ ISTOTNĄ ROLĘ W NAWODNIENIU NASKÓRKA

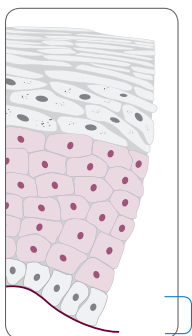
Keratynocyty tej warstwy zawierają **keratohialinę** i **ciałka Odlanda**.

Ciałka Odlanda są bogate w lipidy i biorą udział w produkcji cementu międzykomórkowego.

Ziarna keratohialiny ulegają rozpadowi pod wpływem hydrolizacji na filagrynę, która uczestniczy w konsolidacji sieci odpowiedzialnej za powstawanie keratyny, składnika korneocytów.

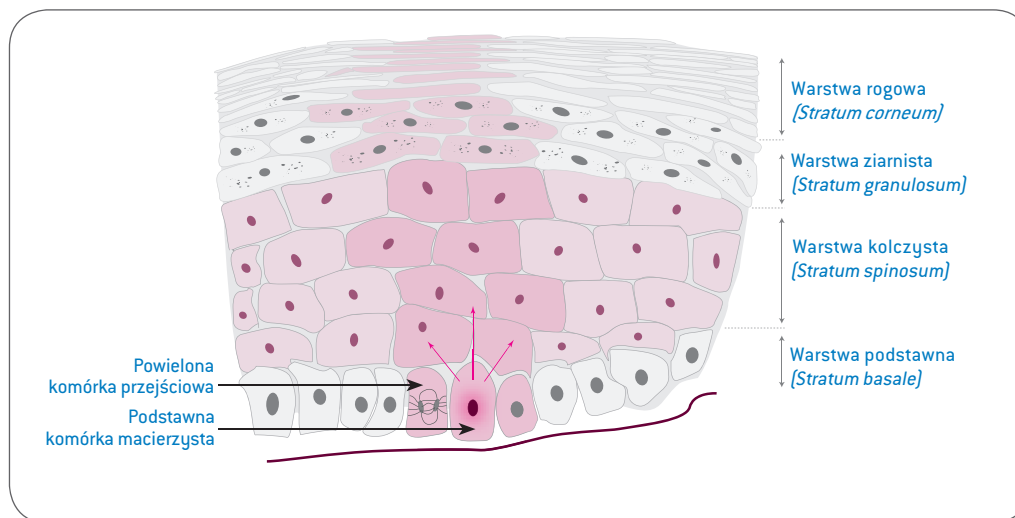
Filagryna, na skutek proteolizy, ulega rozpiciu na wolne aminokwasy polarne, tworzące **naturalne czynniki nawilżające** (lub NMF), ponieważ niektóre z nich to cząsteczki przechwytyjące wodę.

Z tego powodu, NMF (Naturalny Czynniki Nawilżający) odgrywa fundamentalną rolę w nawadnianiu skóry.



OMÓWIENIE STRATUM GERMINATIVUM - MAGAZYNU KOMÓREK MACIERZYSTYCH NASKÓRKA

Poszczególne warstwy naskórka



Stratum germinativum jest najgłębszą warstwą naskórka. To właśnie tu powstają komórki naskórka.

Tak zwane dorosłe komórki macierzyste są niezróżnicowane, choć wyspecjalizowane, i można je opisać dzięki posiadaniu przez nie dwóch podstawowych, odmiennych cech:

- zdolności do samoodnawiania i pozostawania w miejscu przez dłuższy okres czasu,
- zdolności do tworzenia różnych typów komórek.

Skóra, narząd podlegający szybkiemu i stałemu odnawianiu, należy do grupy tkanek zawierających znaczną ilość komórek macierzystych. W związku z powyższym, każda z części składowych skóry posiada komórki macierzyste, które mogą przekształcić się w melanocyty, adipocyty, komórki nerwowe, komórki śródbłonna, komórki mezenchymalne i komórki naskórka.

Epidermalne komórki macierzyste znajdują się w regionie cebulki włosa (komórki macierzyste mieszka włosowego), w gruczołach łojowych (komórki macierzyste gruczołu łojowego) oraz w *Stratum germinativum* (epidermalne komórki macierzyste wewnątrz mieszkowe lub podstawne komórki macierzyste).

Podstawne komórki macierzyste naskórka (lub epidermalne komórki macierzyste) stanowią główne źródło podaży komórek macierzystych naskórka i zapewniają odnowę keratynocytów. W ten sposób przyczyniają się do utrzymania homeostazy skóry, a także do gojenia i regeneracji naskórka, zapewniając w ten sposób jego integralność przez całe życie.

1

Opublikowana wiedza
na temat skóry dziecka





Opublikowana wiedza na temat skóry dziecka

Aktualny stan wiedzy wskazuje na różnice funkcjonalne między skórą dzieci a skórą osób dorosłych.

Narodziny i pierwsze miesiące życia mają decydujące znaczenie w procesie adaptacji do życia w gazowym i stosunkowo suchym środowisku poza macicą matki. Zdarzenia odpowiedzialne za takie przystosowywanie można scharakteryzować za pomocą funkcji fizjologicznych manifestowanych przez określone parametry biofizyczne.

1) Odczyn pH na powierzchni skóry

pH warstwy rogowej odgrywa istotną rolę w zachowaniu równowagi bariery ochronnej skóry, dzięki swemu oddziaływaniu na powstawanie *Stratum corneum* i stanowieniu bariery przeciwbakteryjnej.

Występujący tuż po urodzeniu podwyższony (zasadowy) odczyn pH, pomiędzy pierwszym i czwartym tygodniem życia spada do wartości stwierdzanych u dorosłych.

2) Bariera ochronna wyrażana jako IWL (utrata wody spowodowana czynnikami zewnętrznymi)

U donoszonych noworodków zaobserwowano niewielki wzrost IWL (mierzonej w $\text{g/m}^2/\text{h}$) w ciągu pierwszych godzin po urodzeniu. Następnie wartości IWL stabilizują się szybko na poziomach porównywalnych z poziomami u dorosłych.

3) Nawilżenie *Stratum corneum*

Nawilżenie skóry jest jednym z kluczowych czynników mających wpływ na odporność skóry przed szkodliwym oddziaływaniem czynników mechanicznych.

Nawilżenie *Stratum corneum*, minimalne przy urodzeniu, wzrasta w ciągu pierwszych sześciu miesięcy życia. Następnie stabilizuje się na poziomie porównywalnym z poziomem obserwowanym u osoby dorosłej.

4) Wydzielanie sebum

W chwili narodzin gruczoły łojowe są już obecne, ale funkcyjnie niedojrzałe.

Wykazano, że od dnia narodzin wydzielanie sebum wzrasta, by osiągnąć poziom obserwowany u osób dorosłych w ciągu pierwszych miesięcy po porodzie.

W szóstym miesiącu życia, wartości te są mniejsze niż u dorosłych i pozostają identyczne aż do okresu dojrzewania.

5) Wydzielanie potu

Wydzielanie z gruczołów potowych (pocenie się lub potliwość), potęgowane przez emocje lub temperaturę, daje się już zaobserwować u noworodków urodzonych w terminie.

Wydzielanie z gruczołów potowych po narodzinach zwiększa się w odpowiedzi na temperaturę, a nie na skutek emocji. Stanowi to istotną różnicę pomiędzy noworodkami a starszymi dziećmi.

6) Unaczynienie skóry

Tuż po narodzinach, unaczynienie skóry stanowi gęsty, poziomy splot naczyń włosowatych o niezorganizowanej sieci. Zamknięcie sieci naczyń włosowatych daje się zaobserwować na całym ciele dopiero w wieku 14-17 tygodni.

Zmienne wpływające na parametry czynnościowe skóry

ZMIENNE						
Parametry czynnościowe	Wiek ciążowy	Wiek poporodowy	Płeć	Część ciała	Temperatura otoczenia	Wilgotność otoczenia
IWL	+	+	0	+	+	+
Nawilżenie SC	+	+	0	+	+	+
Odczyn pH na powierzchni	0	+	+/-	+	?	?
Wydzielanie sebum	?	+	0	+	?	?
Wydzielanie Gruczołów potowych (potliwość)	+	+	?	+	+	+
Unaczynienie Skóry	+/-	+	?	+	+	?

« + »: obecny wpływ --- « 0 »: brak wpływu --- « ? »: brak danych
« +/- »: sprzeczne dane IWL: utrata wody spowodowana czynnikami zewnętrznymi SC - SC: Stratum corneum

PODSUMOWANIE

Literatura podaje, że w chwili narodzin rozwój skóry nie jest zakończony, co sprawia, że jest ona bardzo narażona na szkodliwe działanie czynników zewnętrznych.

Niemniej jednak, brakuje opublikowanych danych dotyczących rozwoju naskórka od chwili narodzin do osiągnięcia przez dziecko wieku 2 lat, w odniesieniu do:

- struktury Stratum corneum
- składu biochemicznego Stratum corneum i Stratum granulosum
- zmian markerów genowych, w szczególności tych w Stratum germinativum

W związku z tym, wiele pytań pozostaje nadal bez odpowiedzi, a w szczególności te związane z dojrzewaniem naskórka pomiędzy narodzinami a drugim rokiem życia, począwszy od komórek Stratum corneum po komórki macierzyste naskórka.

Z tego powodu Laboratoires Expanscience zdecydowało się rozpocząć w 2003 roku program fundamentalnych badań, którego początkowe wnioski będą zaprezentowane w następnym rozdziale.

2

Program badawczy EV.E.I.L.S (EValuation of the Early Infant Life: the Skin)





Program badawczy EV.E.I.L.S EValuation of the Early Infant Life: the Skin

Program badawczy **EV.E.I.L.S** (*EValuation of the Early Infant Life: the Skin*) to seria bezprecedensowych w skali światowej badań, prowadzonych przez ostatnie dziesięć lat przy wsparciu międzynarodowych badaczy:

J. FLUHRA, Adiunkta Oddziału Dermatologii w Berlinie

J.P. HACHEMA, Profesora Dermatologii Uniwersytetu Brukselskiego.

Celem niniejszego programu badawczego jest lepsze zrozumienie i analiza procesu dojrzewania zdrowego dziecka od dnia narodzin przez pierwsze lata życia.

Przy użyciu innowacyjnych i nieinwazyjnych technologii, Centrum Badawczo-Rozwojowe Laboratoires Expanscience przeprowadziło bezprecedensowe fundamentalne badanie dotyczące fizjologii skóry dziecka, od jej powierzchni aż do warstwy komórek macierzystych naskórka, począwszy od najwcześniejszych dni życia.



Początkowe wyniki - które w momencie pisania niniejszego opracowania były przedmiotem 9 wniosków patentowych i 18 międzynarodowych publikacji, w tym w *British Journal of Dermatology* – zostały zaprezentowane Państwu w niniejszym dossier naukowym.

A. Innowacyjne i etyczne technologie badawcze

Przeprowadzono 3 bezprecedensowe badania przy zastosowaniu technologii, które są innowacyjne i nieinwazyjne.

a. Skaningowa mikroskopia elektronowa

Skaningowa mikroskopia elektronowa jest techniką wykorzystującą mikroskop elektronowy, który jest w stanie generować wysokiej rozdzielczości obrazy powierzchni próbki skóry.

Technika ta polega na emitowaniu wiązki elektronów, które omiatają powierzchnię skóry; ta, w odpowiedzi, emituje pewne cząsteczki. Cząstki te są analizowane za pomocą różnych czujników, pozwalając na rekonstruowanie trójwymiarowego obrazu.

Naukowcy Laboratoires Expanscience przeanalizowali, jako pierwsi na świecie, próbki komórek skóry pobrane od noworodków za pomocą nieinwazyjnych przeznaczonych do tego celu dysków D-Squame®.



Próbki pobierano z przedramienia, a następnie poddano je obserwacji pod skaningowym mikroskopem elektronowym, który umożliwił wizualizację zmian warstwy rogowej naskórka na poziomie komórkowym. Niniejsze badanie *in vivo*, podzielone na 2 fazy pozwoliło badaczom **obserwować i analizować budowę bariery skóry**.

Pierwsza, „wstępna” faza została przeprowadzona na 66 podmiotach, podzielonych na 6 grup wiekowych:

- noworodki urodzone w terminie (1-15-dniowe)
- 5-tygodni (+/- 1 tydzień)
- 6-miesięcy (+/- 1 miesiąc)
- 1-2 lata
- 4-5 lat
- dorośli (20-35 lat)

Druga faza „walidacji” została przeprowadzona na 30 podmiotach, podzielonych na 5 grup wiekowych:

- 5-tygodni (+/- 1 tydzień)
- 6-miesięcy (+/- 1 miesiąc)
- 1-2 lata
- 4-5 lat
- dorośli (20-35 lat)

To innowacyjne podejście umożliwiło stworzenie pierwszej skali dojrzałości bariery skórnej.

b. Spektroskopia Ramana

Technologia ta używa sondy umieszczonej na skórze i wiązki laserowej **do pomiaru dystrybucji wody w różnych warstwach naskórka oraz identyfikacji i kwantyfikacji NMF** (Naturalnych Czynn timer Nawilżających).

(Maks. głębokość: 50µm – podziałka pomiarowa: 5µm)



Dzięki zastosowaniu tej nieinwazyjnej techniki, badaczom z Laboratoires Expanscience udało się przeprowadzić pomiary dystrybucji wody i naturalnych czynników nawilżających w różnych warstwach *Stratum corneum* skóry niemowląt od pierwszych dni życia.

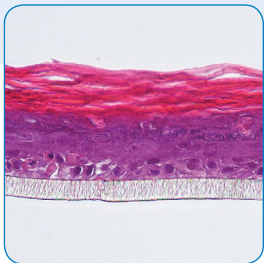
Badanie zostało przeprowadzone *in vivo* na 108 podmiotach, podzielonych na 6 grup wiekowych:

- noworodki urodzone w terminie (1-15-dniowe)
- 5-tygodni (+/- 1 tydzień)
- 6-miesięcy (+/- 1 miesiąc)
- 1-2 lata
- 4-5 lat
- dorośli (20-35 lat)

Przeprowadzono również pomiary konwencjonalne, takie jak pomiar IWL - utraty wody spowodowanej czynnikami zewnętrznymi (wskazujący na przepuszczalność bariery skóry), pojemności elektrycznej skóry (pomiar nawilżenia w powierzchniowych warstwach naskórka), czy odczynu pH na powierzchni skóry.

Niniejsze badanie pozwoliło ocenić dynamiczne zmiany nawilżenia nie tylko na powierzchni skóry, ale także w głębszych warstwach Stratum corneum. Wyniki zostały opublikowane w British Journal of Dermatology.

c. Modele naskórka *in vitro* i analiza genomu



Naukowcy z Laboratoires Expanscience, jako pierwsi na świecie, użyli keratynocytów do stworzenia modeli i zbadania naskórka małych dzieci w różnym wieku i udało im się uzyskać specyficzne modele dla każdej grupowej:

- 1 miesiąc / 4 miesiące / 6 miesięcy / 1 rok / 2 lata / 3 lata / 7 lat / 12 lat / dorośli

Stworzenie takich modeli naskórka wymagało zastosowania innowacyjnego podejścia. Używając próbek skóry w różnym wieku, wyizolowano keratynocyty komórek naskórka i umieszczono je w zawieszynie. **Potem, możliwa była rekonstrukcja naskórka niemowląt i dzieci w różnym wieku, przy zastosowaniu technik inżynierii komórkowej.** Dalsze badanie histologiczne umożliwiało potwierdzenie jakości odtworzonego naskórka.



Aby dostać się do wnętrza komórki i lepiej zrozumieć zachodzące w niej zmiany,

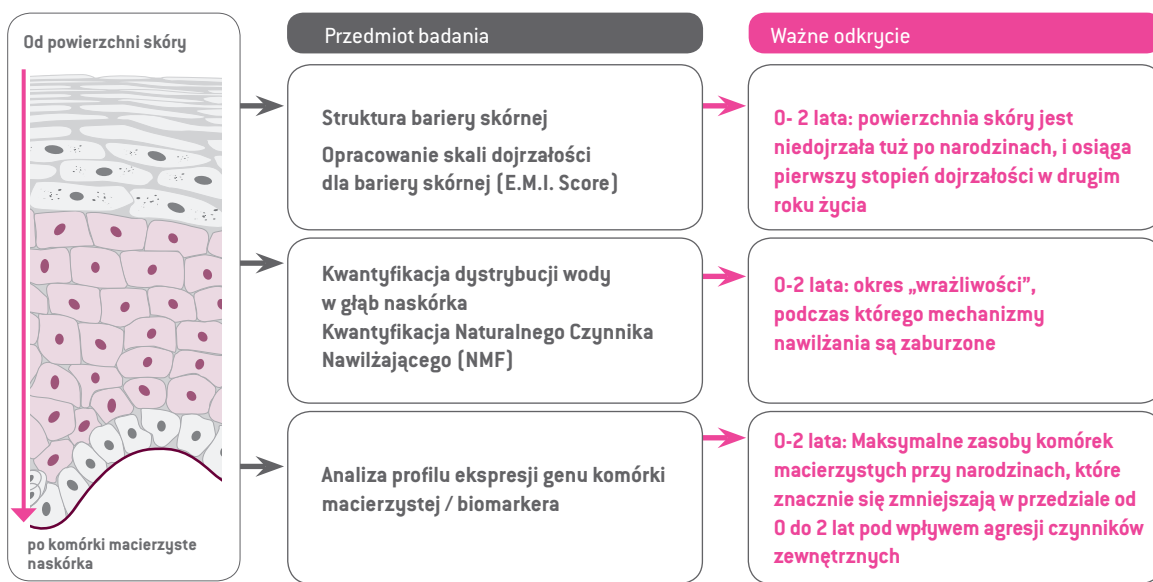
Laboratoires Expanscience zdecydowało się zbadać tysiące genów.

Przeanalizowano profile ekspresji genów, stosując test ilościowy PCR w czasie rzeczywistym (reakcję łańcuchową polimerazy), który umożliwia łatwe wykrycie i dokładne zliczenie wybranych genów.

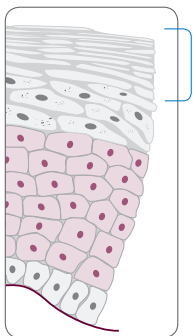
Niniejsze badanie pozwoliło na analizę ekspresji genów, od powierzchni skóry po komórki macierzyste, w modelach zrekonstruowanego naskórka dzieci w różnym wieku.

B. Trzy istotne odkrycia dotyczące skóry niemowląt w wieku od 0 do 2 lat

Te zróżnicowane badania nad skórą dzieci w różnych grupach wiekowych (od chwili narodzin), począwszy od powierzchni naskórka aż po komórki macierzyste, pozwoliły na dokonanie 3 ważnych odkryć.



a. Odkrycie związane ze strukturą *Stratum corneum*



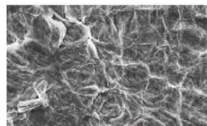
Pierwsze odkrycie i stworzenie pierwszej skali dojrzałości bariery skórnej: niedojrzała funkcja ochronna, rozwijająca się w ciągu pierwszych lat życia.

- W trakcie „wstępnej” fazy badania, stwierdzono zachodzące z wiekiem zmiany w budowie *Stratum corneum*, co wykazano na podstawie obserwacji i opisów 300 obrazów uzyskanych za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej.

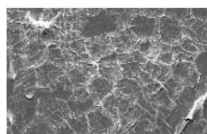
Obrazy (w 500-krotnym powiększeniu) uzyskane dzięki zastosowaniu skaningowej mikroskopii elektronowej wykazują, że *Stratum corneum*:

- jest u noworodków niejednorodna (niezorganizowana),
- zorganizowane sieci zaczynają się pojawiać ok. 2. roku życia,
- ostatecznie, po osiągnięciu dorosłości, staje się jednorodna.

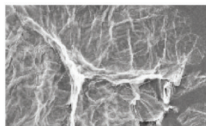
Noworodek



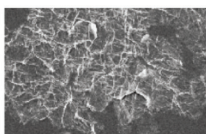
w 1-2 r.ż.



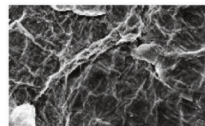
w 5-6 tyg. życia



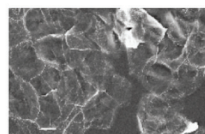
w 4-5 r.ż.



w 6. miesiącu życia



Dorośli



Powiększenie x 500

Powierzchnia skóry niejednorodna i niezorganizowana u niemowląt w pierwszych miesiącach życia: organizacja anizotropowa

Pojawienie się zorganizowanych, niezorientowanych i jednorodnych sieci: organizacja izotropowa