

Silikonlar ve Stratum Korneum Lipidleri Arasındaki Etkileşimler'in Araştırması¹

INVESTIGATION OF INTERACTIONS BETWEEN SILICONES AND STRATUM CORNEUM LIPIDS

B. GLOMBITZA and C.C. MULLER-GOYMANN

Institut für Pharmazeutische Technologie, Mendelssohnstraße 1, D-38106 Braunschweig, GERMANY

©Glombitza B and Müller-Goymann CC. Investigation of Interactions Between Silicones and Stratum Corneum Lipids. International Journal of Cosmetic Science, 2001; 23(1):25-34

Özet

Topikal uygulanan cilt koruma formüllerinin içeriklerinin sadece insan cildi görünümünün üzerinde pozitif etkileri olmasıyla beraber, ayrıca stratum korneum (SC)'un lipid bariyerini de bozar. Şu anki çalışmada kozmetik içerik olarak da sıklıkla kullanılan silikonların (PDMS); SC (stratum korneum) lipidlerinin mikroyapıları üzerindeki etkisi araştırıldı. Bu amaçla; eksize edilen insan SC'deki dört farklı PDMS'nin etkileşimleri, fiziksel tanımlama için ilk önce diferansiyel scanning kalorimetre (DSC) ve geniş açılı X-ray diffraksiyon kullanarak incelendi. İnsan stratum korneumunun fiziksel özellikleri, bireysel ve bireyler arası farklılıklar içererek; kuvvetlice lipid bileşimine dayandığından, SC yağ asitlerini içeren bir invitro lipid sistemi modelindeki etkileşimler, polarize ışık mikroskopu, transmisyon elektron mikroskopu; dar açılı x-ray kırıcı ve DSC kullanılarak çalışıldı. Sonuçların açıkladığına göre, araştırılan PDMS ne eksize insan SC'unun mikroyapısını ne de invitro model'in bifazik/lamellar/ters heksagonal yapısını değiştirmektedir. Formül geliştirilmesinin erken bir anında cilt bariyeri ve kozmetik içerikler ve topikal uygulanan maddeler arasındaki etkileşimlerin varsayılmasında bizim basitleştirilmiş invitro modelin yardımcı olabileceği ve topikal uygulananların herhangi bir yan etki oluşturmayacağı konusunda bir karara vardık.

Anahtar Kelimeler: Etkileşim çalışması, Silikonlar, Stratum korneum, Stratum korneum lipitleri

T Klin Kozmetoloji 2002, 3:105-114

Summary

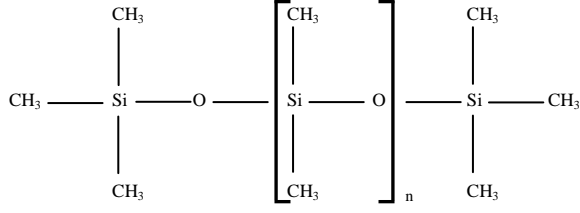
Ingredients of topically applied skin care formulations have not only positive effects on the appearance of human skin but can also disturb the Stratum corneum (SC) lipid barrier. In the present study, the influence of silicones (PDMS), as often used cosmetic ingredients, on the microstructure of SC lipids was investigated. For this purpose the interactions of four different PDMS with excised human SC were examined first using differential scanning calorimetry (DSC) and wide angle X-ray diffraction for physical characterization. Because the physical properties of human stratum corneum strongly depend on the lipid composition, showing inter- and intra-individual differences, the interactions with an in vitro model lipid system containing SC fatty acids were also studied, using polarized light microscopy, transmission electron microscopy small angle X-ray diffraction and DSC. The results revealed that the investigated PDMS do not change either the microstructure of excised human SC or the biphasic lamellar/inverse hexagonal structure of the in vitro model. We concluded that PDMS will not cause any side-effects when topically applied and that our simplified in vitro model could be helpful for estimating interactions between cosmetic ingredients and other topically applied substances and the skin barrier at an early moment of formulation development.

Key Words: Interaction study, Silicones, Stratum corneum, Stratum corneum lipids

T Klin J Cosmetol 2002, 3:105-114

Silikonlar; kişisel bakım ürünlerine 1950'lerden beri eklenmiş ve son zamanlarda cilt bakım formüllerinde parsiyel yeniden yerleştirilme, yerine geçici veya kolaylaştırıcı olarak çok sayıda organik materyal olarak kullanımı giderek artmıştır. Kozmetik, Tuvalet Eşyası ve Güzel Koku Kurumu (Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (CTFA)) veya Çevresel Koruma Ajan-

sı (Environmental Protection Agency, (EPA)) tarafından silikonlar yağ olarak sınıflandırılmadığı önemle vurgulandığından, yağsız ürünlerde tercih edilen içeriklerdir. Onun yerine; özellikli kimyasal maddeler olarak da tanımlanırlar (1). Aslında kullanılan silikon; değişik derece ve viskozitelerde bulunabilen polidimetilsiloksan'dı (PDMS=CTFA İsmi= Dimetikon, Resim 1). PDMS'nin fiziksel



Resim 1. Polidimetilsiloksan veya dimetilikon

özellikleri; örneğin kopolimerlerin oluşumu veya farklı organik eklemelerle metilgruplarının birinin, yeniden yerleştirerek de polimerizasyon derecesini değiştirerek, PDMS'nin fiziksel özellikleri modifiye edilebilir. Bugün, değişik derece ve viskositede bulunabilen, kozmetik materyallerin INCI veritabanında, 60'dan fazla silikon bileşimi sıralanmıştır.

PDMS'nin yüksek moleküler esnekliği düşük yüzey gerilimi ve mükemmel zar oluşturma eğilimi gibi fiziksel özelliklere yol açar. Cilt koruma formüllerinde, örneğin yağlandırıcı özellikleri ve cildi gösteren tanımlayıcı yumuşak kadife gibi hissedilişi ve kremler, losyonlar ve güneşten koruma formüllerindeki unsurlar olarak bilinirler. Tablo 1'de; PDMS'nin bazı kimyasal-fiziksel özellikleri ve ürün yararları gösterilmiştir.

Toksik ve tahriş edici olmayan içerikler olarak bilinmesine rağmen, PDMS'nin özellikle insan epidermal cilt yapılarıyla epidermin üst tabakası stratum corneum (SC)'un lipidleriyle etkileşimi araştırılmamıştır.

SC, gösterilen lamellar yapının lipid bir matriksinde gömülmüş; çok sayıda keratinize korneosit tabakası içerir. Bu matriksin ana kurucuları seramidler, kolesterol ve serbest yağ

asidleridir ve ekstrasellüler membran yapılarının bu lipidlerce oluşturulmasının, perkutan penetrasyon için major bariyeri kurduğu konusunda görüşbirliğine varılmıştır.

İnsan SC ve SC lipidlerinin fiziksel-kimyasal özelliklerinin çalışılması için çok sayıda in vitro metod vardır. Bu teknikler; X-ray kırılması (3), diferansiyel skanning kalorimetreyi (4) ve infrared spektroskopu (5) içerir ve sıklıkla eksize insan SC'umu ve topikal uygulanan maddeler arasındaki etkileşimlerin çalışılmasında kullanılır. Örneğin, insan SC'si üzerinde fiziksel davranış olarak, penetrasyon arttırıcıların etkisi birçok yazar tarafından tanımlanmıştır. Yaygın olarak çalışılan maddeler arasında oleik asid (6,7), terpenler (8,9) DMSO (10) ve azon (11,12) vardır ve bunlar lipid karışıklığı yaratarak SC'nin bariyer özelliklerini azaltır ve perkutan ilaç dağılımını arttırır. Eksize insan SC'ü kullanımının dezavantajları lipid bileşimi ve böylece fiziksel özelliklerin vericiye bağlı olarak değişmesi (13) ve cerrahi düzeltmelerden dolayı sınırlı sayıda hazır bulunmasıdır.

O nedenle, SC lipidlerinin model sistemleri sıklıkla cilt bariyerine benzemek veya modellerin faz davranışı üzerinde maddelerin etkilerini araştırmak için kullanılır. Friberg ve arkadaşları bütün unsurların faz davranışının, karışımın pH'sını güçlü bir şekilde bağlı olduğunu gösterecek SC lipidlerinin yapay bir karışımını araştırmıştır (14,15). Diğer gruplar da SC lipid lipozomlarını çalışmış ve bu lipozomlarla hazırlanan membranların; invivo transepidermal su geçirme oranıyla karşılaştırmalı su geçirgenliği olduğunu bulmuşlardır (16,17). Bouwstra ve arkadaşları; karışımda (18,19) seramid 1'in

Tablo 1. (2)'den modifiye PDMS'nin kimyasal-fiziksel özellikleri ve ürün yararları

Kimyasal-fiziksel özellikler	Ürün yararları
Fiziksel ve kimyasal etkisiz	Mükemmel yayılma ve zar oluşturan etkenler
Düşük yüzey gerilimi	Yağlılık olmadan yağlandırıcı etki
Tek moleküler yapı	Cildin yumuşak kadife gibi hissedilmesi
Yüksek kırılma oranı	Emme olmadan ürünlerin sudan uzaklaştırması
Sulu ve bazı organik sistemlerle geçimsizlik	İçeriklerin detoksifikasyonu

varlığına bağlı olarak, kolesterol ve seramid karışımının, SC lipidlerinin faz davranışına çok benzediğini göstermiştir. Moghimi ve arkadaşları; SC intersellüler lipidleri için lamellar bir matriks modeli olarak kolesterol ve serbest yağ asitlerini içeren basit bir karışım kullandı ve bu lipid sistemindeki ilaç ve arttırıcı etkileşimlerini araştırdı (20-22).

İzleyen çalışmada; fiziksel-kimyasal tanımlama için ilk önce DSC ve geniş açılı X-ray kırıcı kullanılarak, eksize insan SC'unun fiziksel davranışı üzerinde PDMS'nin etkileri araştırıldı.

Daha sonra; dar-açılı X-ray, polarize ışık mikroskobu, transmisyon elektron mikroskobu ve differansiyel skanning kalorimetre (DSC) ile; insan SC'unda da bulunan doymamış ve doymuş yağ asitlerini içeren invitro bir model sistemiyle PDMS'nin etkileşimlerini araştırdık. PDMS'nin; SC lipidlerinin sunulan multilamellar sistemiyle etkileşimde bulunup bulunmayacağı ve bizim basitleştirilmiş modelimizin; kozmetik içerikler ve SC lipidler arasındaki etkileşimleri varsayabilmekte yararlı olup olamayacağı tartışılacaktır.

Materyal ve Metodlar

Materyaller

Merck (Darmstadt, Germany)'den %99 saflıkta oleik asid, linoleik asid, miristik asid ve stearik asid elde edildi. Etkileşim çalışmaları için 4 farklı viskozitede polidimethylsiloksan (AK Wacker® 350, 500, 1000, 2000; Wacker-Chemie GmbH, München, Germany) kullanıldı. İki kere distile edilmiş kalitede su kullanıldı.

Eksize İnsan Stratum Corneum'unun (SC)

Hazırlanması

Cerrahi düzeltmelerden patolojik olarak negatif cilt örnekleri (kadın, 50 yaşında, uyluğun iç yüzünden; erkek, 26 yaşında, abdomen) elde edildi. İzole SC, Christophers ve Kligman (23)'in metodunu kullanarak tripsinizasyonla hazırlandı. SC'nin temizlenmesi için; suyla ve tripsin inhibitör solusyonuyla (%0.001 (m/m); Sigma, Dreisenhogen, Germany) yıkandı ve silikajel üzerinde bir dessikator'de kurutuldu.

PDMS ile tanımlama veya bakımdan önce, SC, %20'lik derecede nemlenmesi için; çevre ısısında %76'lık nemde 48 saat boyunca bekletildi.

SC'nin PDMS ile bakımı

SC'nin nemlendirilmiş örnekleri; fazla PDMS'de iyice ıslanacak şekilde 37°C'de 20 dakika boyunca bakıma maruz kaldı. Örnekler, sellüloz bir dokuyla PDMS'den ayrıldıktan sonra ölçüldü.

Eksize İnsan Stratum Corneum (SC)'nin DSC Çalışması

SC'nin bakıma uğramış ve uğramamış örnekleri alüminyum tepside işaretlendi ve referans olarak bir differansiyel skanning kalorimetre DSC220 (SEIKO, Neu-Isenberg, Germany) kullanarak boş bir alüminyum tepside 5 K min⁻¹'de 0°C'den 140°C'ya kadar ölçüldü.

Bakıma Uğramamış/Uğramış SC'un Geniş Açılı X-Ray Kırıcısı (WAXD)

SC'nin nemlendirici bakımına uğramamış/uğramış örnekleri X-ray amorf cam kapillerlere yerleştirildi (0.5 mm; id çapında) ve 96 saat boyunca 36 cm çevresi olan Debeye-Scherrer kamerada ölçüldü. X-ray'lar; bakır bir anodlu (anod akımı 40 mA; $\lambda=0.154$, akselere voltaj 40 kV) bir PW-1830 jeneratörle (Philips, Kassel, Germany) üretildi. Kırıcı örnekleri, Fuji 100 film'de (Fuji, Tokyo, Japan) halkalar halinde tarandı. Yarıçaplarının kırıcı açısından, Bragg's yasası referans tutulacak theta ve böylece intermoleküler uzaklıklar hesaplandı.

İn Vitro Model Lipid Sistemin Bileşimi ve Hazırlanması

Bir SC lipid matriksinin bileşiminde; kısmen %41'e kadar nötralize olmuş ve su içeriği ve insan stratum korneumunun pH'sına bağlı olarak (H₂O %10-40; pH:4.5-6) NaOH solusyonuyla nemlenmiş doymamış yağ asitleri (%34.4 oleik asid; %13.0 linoleik asid) ve doymuş yağ asitleri (%38.4 palmitik asid, %3.9 miristik asid, %10.3 stearik asid; bütün yüzdeler w/w olarak) bulunmaktadır. Ortalama %32'lik bir su içeriğine erişildi. Yağ asitlerinin bileşimi; literatürde bulunan miktarlara dayanıyordu (13).

Matrix, Friberg metodu (14) referans tutularak hazırlandı, santrifujasyon için yapılandırılmış, işaretli 7 mm'lik bir cam tüp kullanıldı. Yağ asidlerinin parsiyel nötralizasyonu için lipidler ve NaOH solusyonu cam tüpte tartıldı ve sonradan yaklaşık 40 dakika santrifuj edildi. Her santrifujasyon yöntemi arasında karışım 80°C'da 30 dakika kadar ısıtıldı.

Model Lipid/PDMS Karışımlarının Hazırlanması

Bu amaçla, hazırlanan lipid matrikse; % 10'luk (w/w) PDMS eklendi ve homojenizasyon için 10 kere santrifuj edildi.

Polarize Işık Mikroskobu (PLM)

Bütün lipid karışımlar, çapraz polarizer ve bir λ yüzey kullanılarak; Zeiss tipi bir III fotomikroskopla (Oberkochen, Germany) incelendi.

Dar Açılı X-Ray Kırıcısı (SAXD)

Dar açılı X-ray kırıcı analizi pozisyon hassas bir detektor kullanarak (Braun, München, Germany) bir Kiesrig kamera ile gerçekleştirildi. X-ray bakır anodlu bir PW-1730 jeneratörle (Philips, Kassel, Germany) üretildi. Anod akımı 25 mA; 40 kV'lık akselere voltajla $\lambda=0.154$ nm'di. Örneklerin hazırlanması, 1 mm'lik kalınlıkla kapton folyoları arasında (Krempel, Vaihingen, Germany) yarıkatı örnekler basarak özel olarak yapılandırılmış örnek taşıyıcısıyla gerçekleştirildi. Uygulama süresi, çevre ısısında 400 sn'di.

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Örnekler iki altın yüzey arasında fikse edildi, eriyen azotta şok dondurma uygulandı ve BAF 400 D buz kırıcı aygıtıyla -100°C'da 5×10^{-6} bar'dan az, yüksek bir basınçta kırıldı. Kırılmış yüzey, 45°'lik bir açıda (tabaka kalınlığı 2 nm) platinyum/karbon (Pt/C)'la gölgelendirilerek kopyalandı. Mekanik stabilite açısından, örnekler ardışına 90°'lik bir açıyla (tabaka kalınlığı 20 nm) karbonla gölgelendirildi. Kloroform/metanol 1:1 (v/v) ve suyla temizlendikten sonra, kopya bir EM-300 transmisyon elektron mikroskopla (Philips, Kassel, Germany) incelendi.

Karışımların Diferansiyel Skanning Kalorimetresi (DSC)

Örnekler alüminyum bir tepside işaretlendi ve DSC 220'yi referans olarak kullanarak boş bir alüminyum tepsiyle 5°C'den 90°C'ye 5°C min⁻¹'de ısıtıldı.

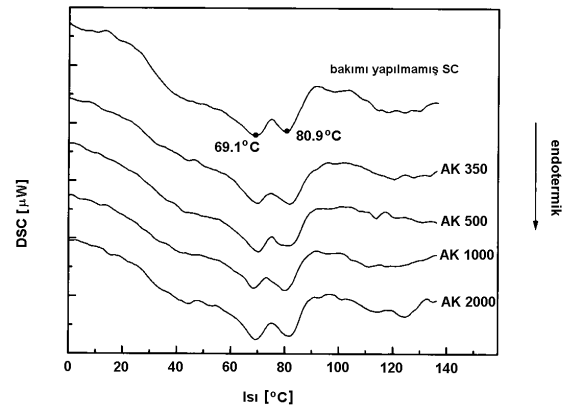
Sonuçlar

PDMS'nin eksize insan stratum korneum (SC) ile Etkileşimleri

DSC çalışması

SC'nın nemlendirilmiş bir örneğinde, 0°C ve 140°C arasındaki bir ısı dizisinde dört ana endotermik geçişler oluşabilir. En yüksek geçiş 100°C'da korneositlerin (11-26) intrasellüler keratin denaturasyonuna atfolunurken; 40°, 70° ve 80°C'da düşük ısı piklerinin SC'nın (25-27) lipidlerine bağlı olduğuna inanılmaktadır. Araştırmalarımız, 70° ve 80°C'daki lipid faz geçişlerine odaklanmıştır, çünkü 40°C'daki ilk geçiş genellikle çok düşüktür ve bütün örneklerde ortaya çıkarılamamaktadır. Eksize SC'nın lipid bileşimi ve böylece fiziksel davranışı, vericinin cinsiyeti, yaşı, beslenme durumu ve örneğin alındığı vücut bölgesine dayandığından, DSC profilleri, aynı vericiden ve aynı bölgeden alınan SC'ler uygulandığında karşılaştırılabilir.

Resim 2 ilk vericinin (kadın, 50 yaşında, uyluğun iç kenarı) 4 farklı PDMS ile bakıma



Resim 2. Bakım yapılmamış insan stratum korneumu ve 4 farklı PDMS AK 350, AK 500, AK 1000 ve AK 2000 (verici:kadın, 50 yaşında, uyluğun iç kenarı) ile bakımdan sonra, termal profiller

uğramış ve uğramamış SC'unun termal profillerini göstermektedir. Temel çizginin eğimi nedeniyle, 40°C'daki ilk pik'in belirlenmesi zor olduğundan, bakıma uğramamış SC'de 69.1 ve 80.9°C'daki iki endotermal pik kolaylıkla ayırt edilebilir. Aynı nedenle, iki pik eğrisinin altındaki alan olan pik entalpisinin tam belirlenmesi olası değildir. Böylece bu örnek için tanımlayıcı veri olarak maksimum pik ısıları seçilmiştir. Bir DSC eğrisinin maksimum piki kuvvetlice örnek ağırlığına dayandığından ve artan ağırlıkla beraber arttığından, diğer örneklerin ölçümleri karşılaştırmalı örnek ağırlıklarıyla gerçekleştirilmelidir.

PDMS-bakımına uğramış SC örnekleri iki pik maksimum ısıda 69° ve 81°C'de ayrı ayrı belirgin değişiklik göstermez ve termal profillerin gidişi, bakıma uğramamış örnekle karşılaştırılabilir. Bir etkileşim olgusunda, pik maksimum ısıların yer değiştirmesi veya bir veya daha fazla pikin kaybolması; önceden sunulan lipid sahalarındaki sulanmayı veya bozukluğu gösterecektir.

Diğer vericinin SC'unu kullanılarak DSC çalışmasının yinelenmesi de aynı sonuçları verdi ve kullanılan PDMS'lerle termal profillerle belirgin değişiklik yoktu. Böylece silikonların; SC lipidlerinin sunulan mikroyapısını bozmadığı konusunda görüş birliğine varıldı.

Bakıma Uğramamış/Uğramış SC'nin Geniş Açılı X-ray Kırıcısı (WAXD)

Lamellar lipid bölgelerinde SC lipidlerin lateral paketlenmesi ve ayrıca korneositlerin keratin organizasyonu; WAXD ölçümleriyle ortaya çıkarılabilir (28). Bakıma uğramamış SC örneği; literatürde insan SC'u için tanımlandığı şekilde tipik WAXD örneklerini gösterdi. İki keskin kırıcı halkası, ayrı ayrı tekrarlanan 0.37 ve 0.41 nm mesafeleriyle ortaya çıktı. Bu yansımalar, olasılıkla; ortalama bir dikey kafes altında (27-30) dizilen kristal lipidler nedeniyle ve 0.41 nm'deki yansıma ayrıca dönebilme yeteneğine de sahip olan; alkil zincirlerin heksagonal bir paketlenmesini gösterir (31).

0.41 nm'deki yansıma; kimyasal olarak korneosit lipid zarfa (28) bağlanmaya sahip olarak

Resim 3. Eğrilmiş likid kristalinin tipik beliren oluşumlarını gösteren model lipid karışımın PLM mikrografı (BüyümeX635)

yorumlanan; kloroform/metanol karışımıyla lipidlerin ekstraksiyonundan sonra hala ortaya çıkarılabilir.

0.46 nm'de zayıf bir yansımada; korneositlerde yumuşak keratinin yerleşiminin varlığını göstererek ortaya çıkarılabilir (28). Aynı aralıklı, aynı kırıcı çizgileri, PDMS ile bakıma uğramış SC örnekleri için belirlendi.

Bu nedenden dolayı; DSC çalışmasının sonuçlarıyla da beraber uyuşan, X-ray kırıcı çalışmasının sonuçları, araştırılan silikonların SC lipid yapılarıyla etkileşim halinde olmadığı sonucunu da sağlamaktadır.

İn Vitro Model Lipid Sistemin Fiziksel-Kimyasal Tanımlanmaları

Polarize ışık mikroskopu (PLM); invitro model sistemin (Resim 3) anizotropik yapılarını; sıvı bir kristal matrikste mikrokristallerin gömülmesini göstererek açıkladı. Sonrası eğrilmiş bir lamellar likid kristal (14) olarak varsayıldı.

SAXD ölçümleri; diğer çalışmalarda (32) bulunan tipik kırıcı örnekleriyle uyum içinde; heksagonal ve lamellar fazlara atfolunan iki likid kristal sisteminin karışmalarını göstermektedir. Tabaka arasındaki 5.40 nm'lik aralık lamellar fazın ilk sunulan yansımasına ve 4.31 nm'likte heksagonal faza aittir. Kritik bir parametre $p > 1$ ile

sonuçlanan, bir cis-double bağlı geniş hacimli, lipofilik hidrokarbonlu doymamış yağ asidlerinin (linoleik asid ve oleik asid) geometrik önemlerinden, heksagonal fazdaki moleküllerin ters bir paketlenmesi varsayılmaktadır.

Transmisyon elektron mikroskoplar (Resim 4) ters heksagonal faz için geniş lamellar tabakalar ve tubuler yapılar gösteren iki fazın varlığını doğruladı. Kırılmış lamellar alanların düzgün kenarları, tamamen likid kristal olmayan ama daha yüksek düzeyde sunulan kristal yapıdaki lipidler için tipiktir.

Model karışımın termal profili (Resim 5) hakkında; olasılıkla karışımdaki kristal hidrokarbon zincirlerin erimesi nedeniyle 45.13°C'daki bir ana endotermik termal geçiş (başlangıç ısı 34.12°C); 60.1 mJ mg⁻¹'lık geçiş entalpisiyle ortaya çıkarılabilir.

Model Lipid/PDMS Karışımların Araştırılması

Dört farklı viskozitede %10 PDMS içeren bütün karışımların PLM'si, model lipid'in tipik anisotropik yapısında bir dağınıklık göstermesi SAXD ile ortaya çıkarılan karışımların kırıcı örnekleri, hem lamellar ve hem de ters heksagonal fazın aynı karışımlarını verdi. Tabaka arasındaki, aralık Tablo 2'de sunulduğu gibi değişmeden kaldı.

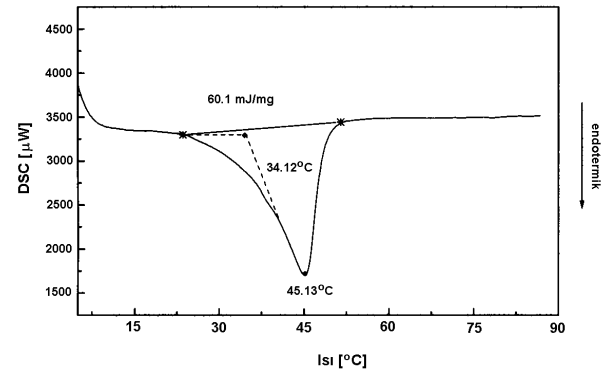
Model lipid/PDMS karışımlarının elektron mikroskoplarında bütün karışımlarda lamellar ve ters heksagonal yapılar görülebilirdi ama bifazik sistemde dağılmış ek olarak damlacıklar gözüküyordu (Resim 6 ve 7).

Bu damlacıklar, orijinal in vitro karışımda gözlenemeyeceğinden; PDMS'nin heksagonal veya lamellar bölümlere giremeyeceği, böylece

emulsiyon damlacıkları gibi iki likid kristal faz arasında yerleşeceğini umduk.

Model lipid/PDMS karışımın termal profiliyle orijinal profili karşılaştırdığımızda; spesifik PDMS'nin viskositesinden bağımsız olarak bütün karışımlarda, aynı endotermik geçişin

Resim 4. Ters heksagonal (IH) ve lamellar (L) yapıları gösteren in vitro model lipid sistemin TEM mikrografi
Bar=225 nm



Resim 3. Eğrilmiş likid kristalinin tipik beliren oluşumlarını gösteren model lipid karışımın PLM mikrografi (BüyümeX635)

Tablo 2. Model lipid karışım/DMS karışımlarının tabaka arası aralığı ortalama±standart sapma (n=3)

Lipid karışımı	Ters heksagonal faz (nm)	Lamellar faz (nm)
Model lipid karışım	5.40±0.04	4.31±0.06
Model lipid karışım % 10 AK 350'li	5.46±0.08	4.34±0.00
Model lipid karışım % 10 AK 500'lü	5.40±0.12	4.29±0.01
Model lipid karışım % 10 AK 1000'li	5.42±0.14	4.31±0.18
Model lipid karışım % 10 AK %2000'lü	5.49±0.04	4.23±0.00

Resim 6. Sistemde dağılmış damlacıkları gösteren %10 AK 500 içeren model lipid karışımının TEM mikrografı
Bar=280 nm

Resim 7. %10 AK 2000 içeren model lipid karışımının TEM mikrografı
Bar=280 nm

ölçülebiliyordu. Eğrinin altındaki alanlar hesaplanabileceği gibi bu geçiş entalpisi yaklaşık %10 azalırken, başlangıç ve pik maksimum ısı, ayrı ayrı belirgin olarak değişmedi (Tablo 3). Dört farklı PDMS; DSC ile ölçüldüğünde 5°C ve 90°C arasında faz geçişi göstermediğinden, entalpideki azalma; PDMS ile invitro karışımın %10 yer değiştirmesine bağlıdır.

Bu çalışmanın bütün sonuçları, 4 araştırılan PDMS'nin model lipid sistemin bifazik lamellar/ters heksagonal mikro yapısını değiştirmedini açıklamaktadır.

Tartışma

Cildin doğal fonksiyonu, vücudu su gibi endojen maddelerin kaybına ve eksojen maddeler nedeniyle çevrenin istenmeyen etkisine karşı korumaktır. Cildin üstün tabakaları, stratum korneum terminal epidermal farklılaşmanın ürünüdür ve bu bariyer fonksiyonunun sağlamlasını; iki kompartmanlı harç-tuğla modeliyle (33) sıklıkla karşılaştırdığında tek yapısıyla yaptığı bilinmektedir. Bu modelde, korneositler, keratin lifleriyle dolu ölü yassı heksagonal hücreler, mekanik stabilite açısından tuğlaları temsil eder. Bunlar “harç” denen; lipidlerin matriksine gömülmüştür ve bu dokunun bariyer fonksiyonundan sorumludur.

Bu matriksin bileşimi, diğer biyomembranlarla karşılaştırıldığında farklıdır, çünkü yaklaşık bütün biyomembranlarda bulunan en büyük iki tabaka oluşturan lipidler; fosfolipidler, SC'da yoktur. Ana unsurlar kolesterol, serbest yağ asidi ve sfingozin bir bazla bağlı amidden oluşan yağ asidli heterojen bir grup, seramidlerdir. X-ray kırıcı lipid organizasyonun son çalışmaları; lipidlerin lateral paketlemeleri temel olarak kristal ve heksagonal olan (27-31), tekrarlanan 6.4 nm'lik bir aralığı ve ikinci bir 13.4 nm'lik hücresi olan (34) yüksek düzeyde sunulan lamellar bir sistemin varlığını açıkladı.

DSC ile SC incelendiğinde, 0°C ve 140°C arasında ortaya çıkan dört geçiş nedeniyle; ilk üç geçişin SC lipidlerine ait olduğuna karar verildi. 40°C'daki termal geçişine ise geniş açılı X-ray kırıcı çalışmalarının temelinde (11-28) lateral lipid paketlenmesindeki ortorombikten heksagonal geçişe atfolundu. Korneosit zarlarının proteine bağlı lipidlerinden 80°C'da köken olarak (11-26), 70° ve 80°C'de lamellar lipid yapısından bozulmuş bir yapıya doğru transformasyon oluştu. 100°C'daki geçiş ise proteinin denaturasyonunun sonucuydu ve SC'un nemlenme seviyesi %10'dan fazla olunca gözlenebiliyordu (11-24).

SC boyunca ister polar bölgelerden veya isterse lamellerin lipid sahalarından olsun ilaçların ve maddelerin yayılmasıyla intersellüler gidışin

Tablo 3. % 10 PDMS içeren karışımların, model lipid karışımın başlangıç, pik maksimum ısı ve entalpisi ile karşılaştırılması
ortalama standart sapma (n=4)

Lipid karışımı	Başlangıç (°C)	Maksimum pik (°C)	Entalpi (mJ mg ⁻¹)
Model lipid karışım	33.93±0.31	45.10±0.59	59.3±1.1
Model lipid karışım AK 350 ile	34.14±0.12	45.26±0.38	53.5±0.6
Model lipid karışım AK 500 ile	34.12±0.43	45.30±0.49	54.3±0.3
Model lipid karışım AK 1000 ile	34.11±0.36	45.36±0.52	53.0±0.7
Model lipid karışım AK 2000 ile	33.86±0.39	45.04±0.33	52.9±0.5

ana yol olduğu umulmaktadır. Bu, SC'un fiziksel-kimyasal davranışının çalışılmasıyla araştırılan özel mikro yapıyla, reversibl veya irreversibl etkileşimle sonuçlanır. Topikal uygulanan maddelerin alınması her zaman istenmediğinden veya yan etki oluşturduğundan eğer bu maddelerin cilt bariyerinde bir etkisi varsa; bilgi elde etmek çok önemlidir. PDMS; kozmetik formüllerde sıklıkla kullanılan bir içeriktir ve örneğin cilt bakım losyonları veya güneşten korunma formüllerinde kullanılırken cildin geniş bir alanı onlarla bakıma uğrar. PDMS'nin biyolojik membranlarla etkileşimde bulunmadığı rapor edilmiştir, ama SC lipidleri bileşimde ve mikroyapıda tek olduğundan PDMS'nin bu mikroyapıyı karıştırmadığı kanıtlanmalıdır.

Değişik PDMS'nin eksise insan SC'unun mikroyapısı üzerindeki etkisi çalışılırken, PDMS'le bakımın eksise insan SC'unun, SC lipid organizasyonunu etkilemediği, bütün sonuçlarla açıklanmış lipidlerde ne bir sıvılaştırma ne de lateral paketlenmede bir değişiklik ortaya çıkarılmıştır.

Sunulan çalışmada; sadece SC yağ asitlerini içeren basitleştirilmiş bir in vitro modelin; PDMS ile olası etkileşimleri de ayrıca araştırılmıştır. Bu matriksin mikroyapısı iki likid kristal faz içerir; kristalize lipid parçalarıyla beraber ters bir heksagonal ve lamellar bir faz. İnsan SC'da sadece lamellar yapılar gözlemlendiğinden, modelimiz tam olarak in vivo şartlarla karşılaştırılmaz. Bununla beraber, avantajları; bu model lipid sistemin sınırlı fiziksel-kimyasal tanımlanmalarıdır. Maddelerin etkileşimleri tanımlanan metodlar kullanılarak

kolayca ortaya çıkarılabilir ve insan SC'unun lamellar yapılarıyla olası bir etkileşimi de gösterebilir.

Değişik PDMS tipleri; model matriksin bifazik yapısını değiştirmez. PDMS'nin likid kristal yapılarla bağlantısı olmadığı anlamını taşıyan, ne termal davranış ve optik örnekteki bir değişiklik, ne de tabakalar arasındaki aralıklarda azalma veya artma ortaya çıkarıldı. TEM ile gözlenen damlacıkların ortaya çıkarılması, PDMS'nin sistemdeki ayrı faz gibi varolduğu ve yapılarla solubilize edilemediğini gösterir.

PDMS'nin, likid kristal yapılarla ve özellikle SC lipidlerinin tek lipid kristal sistemiyle etkileşimde olamayacağı görüş birliğine vardı. PDMS'nin topikal uygulandığında herhangi bir yan etki oluşturmayacağını düşündük ama araştırmamız farklı viskozitelerdeki PDMS üzerinde odaklandı. Diğer PDMS türevleriyle etkileşimler, sonraki araştırmaların konusu olmalarıdır.

Bununla beraber, çalışmamız, SC lipidleri için basit bir invitro modelin verisinin, eksise insan SC'dan elde edilen veri ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, model; özellikle SC lipidleriyle topikal uygulanan maddeler ve cilt bariyeri arasındaki olası etkileşimlerin tahmin edilmesinde yararlı bir alet olarak hizmet verebilir.

SC şartlarıyla karşılaştırılmadığından, korneositler ve korneosit lipid zarfının mikroyapısı ile olan etkileşimler, bu invitro modelle; model eksise insan SC kullanımıyla karşılaştırılmasında bir çok avantaj gösterdiğinden araştırılmaz.

Modelin, ortak teknikler kullanılarak incelenebilecek, tam fiziksel-kimyasal tanımlanmaları vardır. Dahası; unsurları ucuz ve sıklıkla bulunabilir. Böylece model, istenildiği zaman kullanılabilir.

Bununla beraber, topikal uygulanan maddelerin diğer maddelerle etkileşim çalışmaları için in vitro modelinin uygunluğu kanıtlanmalıdır ve gelişme halinde, hem in vitro modelin ve hem de eksize insan SC'unun mikroyapısı üzerinde bozucu etkisini gösteren diklofenak sodyumla bir çalışma bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Weruniger JA, ed. *Cosmetic ingredient handbook*. 1st edn. Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, Washington DC, 1988.
2. Klimisch, HM. Personal care applications. In: Smith AL, ed. *The Analytical Chemistry of Silicones*. New York: Wiley-Interscience, 1991:117-132.
3. Friberg SE, Osborne DW, and Tombridge TL. X-ray diffraction study of human stratum corneum. *J Soc Cosmet Chem* 1985; 36:349-354.
4. DeVos AM, and Kinget R. Study of the penetration-enhancing effect of two nonionic surfactants (Cetiol® HE and Eumulgin® B3) on human stratum corneum using differential scanning calorimetry. *Eur J Pharm Sci* 1993; 1:89-93.
5. Mak VHW, Potts RO, and Guy RH. Does hydration affect intercellular lipid organization in the stratum corneum. *Pharm Res* 1991; 8:1064-5.
6. Green P, and Hadgraft J. Facilitated transfer of cationic drugs across a lipoidal membrane by oleic acid and lauric acid. *Int J Pharmaceut* 1987; 37:251-5.
7. Ongpipattanakul B, Burnette R, and Potts RO. Evidence that oleic acid exist as a separate phase within stratum corneum. *Pharm Res* 1991; 8:350-4.
8. Williams AC, and Barry BW. Terpenes and the lipid partitioning theory of skin penetration enhancement. *Pharm Res* 1991; 8:17-24.
9. Williams AC, and Barry BW. The enhancement index concept applied to terpene penetration enhancers for human skin and model lipophilic (oestradiol) and hydrophilic (5-fluorouracil) drugs. *Int J Pharm* 1991; 76:157-61.
10. Khan ZU, and Kellaway IW. Differential scanning calorimetry of dimethylsulphoxide-treated human stratum corneum. *Int J Pharmaceut* 1989; 55:129-34.
11. Bouwstra JA, de Vries MA, Gooris GS, Bras W, Brussee J, and Ponc M. Thermodynamic and structural aspects of the skin barrier. *J Controlled Rel* 1991; 15:209-20.
12. Schueckler F, and Lee G. Relating the concentration dependent action of azone and dodecyl-pyroglytamate on the structure of excised human stratum corneum to changes in drug diffusivity, partition coefficient and flux. *Int J Pharm* 1992; 80:81-9.
13. Lampe MA, Burlingame AL, Whitney J, Williams ML, Brown BE, Roitman E, and Elias PM. Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *J Lipid Res* 1983; 24:120-30.
14. Friberg SE, Suhaimi H, and Goldsmith LB. Stratum corneum lipids in a model structure. *J Disp Sci Techn* 1988; 9:371-89.
15. Friberg SE, and Osborne DW. Small angle X-ray diffraction patterns of stratum corneum and a model structure for its lipids. *J Disp Sci Techn* 1985; 6:485-95.
16. Wertz PW, Abraham W, and Landmann L. Preparation of liposomes from stratum corneum lipids. *J Invest Dermatol* 1986; 87:582-4.
17. Abraham W, and Downing DT. Preparation of model membranes for skin permeability studies using stratum corneum lipids. *J Invest Dermatol* 1989; 93:809-13.
18. Bouwstra JA, Cheng KS, Gooris GS, Weerheim A, and Ponc M. The role of ceramides 1 and 2 in the stratum corneum lipid organization. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1300:177-86.
19. Bouwstra JA, Gooris GS, Dubbelaar FE, Weerheim AM, Ijzerman AP, and Ponc M. Role of ceramide 1 in the molecular organization of the stratum corneum lipids. *J Lipid Res* 1998; 39:186-96.
20. Moghimi HR, Williams AC, and Barry BW. A lamellar matrix model for stratum corneum intercellular lipids. I. Characterization and comparison with stratum corneum intercellular structure. *Int J Pharmaceut* 1996; 131:103-15.
21. Moghimi HR, Williams AC, and Barry BW. A lamellar matrix model for stratum corneum intercellular lipids. II. Effect of geometry of the stratum corneum on permeation of model drugs 5-fluorouracil and oestradiol. *Int J Pharmaceut* 1996; 131:117-29.
22. Moghimi HR, Williams AC, and Barry BW. A lamellar matrix model for stratum corneum intercellular lipids. III. Effects of terpene enhancers on the release of 5-fluorouracil and oestradiol from the matrix. *Int J Pharmaceut* 1996; 145:37-47.
23. Kligman AM, and Christophers E. Preparation of isolated sheets of human stratum corneum. *Arch Dermatol* 1964; 88:702-5.
24. Van Duzee BF. Thermal analysis of human stratum corneum. *J Invest Dermatol* 1975; 65:404-8.
25. Knutson K, Potts RO, Guzek DB, Golden GM, McKie JE, Lambert WJ, and Higuchi WI. Macro and molecular physical-chemical considerations in understanding drug transport in the stratum corneum. *J Controlled Rel* 1985; 2:67-87.
26. Golden GM, Guzek DB, Harris RR, McKie JE, and Potts RO. Lipid thermotropic transitions in human stratum corneum. *J Invest Dermatol* 1986; 86:255-9.
27. Garson JC, Doucet J, Leveque JL, and Tsoucaris G. Oriented structure in human stratum corneum revealed by X-ray diffraction. *J Invest Dermatol* 1991; 96:43-9.

28. Bouwstra JA, Gooris GS, Salomons-de Vries MA, van der Spek JA, and Bras W. Structure of human stratum corneum as a function of temperature and hydration: a wide angle X-ray diffraction study. *Int J Pharm* 1992; 84:205-16.
29. Small DM. From attanes to phospholipids. In: Hanahan D, ed. *The Physical Chemistry of Lipids*. New York: Plenum Press, 1986:97-148.
30. Wilkes GL, Ngyuen AL, and Wildhauer R. Structure property relations of human and neonatal rat. I. Thermal stability of crystalline lipid structure as studied by X-ray diffraction and differential thermal analysis. *Biochem Et Biophys Acta* 1973; 304:267-75.
31. White SH, Mirejovsky D, and King GI. Structure of lamellar lipid domains and corneocyte envelopes of murine stratum corneum. An X-ray diffraction study. *Biochemistry* 1988; 27:3725-32.
32. Luzatti V, Mustacchi H, Skoulios A, and Husson F. La structure des colloides d'association. I. Les phases liquide-cristallines des systemes amphiphile-eau. *Acta Cryst* 1960; 13:660-7.
33. Elias PM, Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *J Invest Dermatol* 1983; 80:44s-49s.
34. Bouwstra JA, Gooris GS, van der Spek JA, and Bras W. Structural investigations of human stratum corneum by small angle X-ray scattering. *J Invest Dermatol* 1991; 97:1005-12.

*Orijinal İngilizce şeklinden Türkiye Klinikleri tarafından tercüme edilmiştir. Türkçeye tercümesinin doğruluğundan Türkiye Klinikleri sorumludur, Blackwell Science Limited veya Society of Cosmetic Chemists sorumluluk kabul etmemektedir.

Translated by Türkiye Klinikleri Publishing House from the original English language version. Responsibility for the accuracy of the translation in the Turkish language rests solely with Türkiye Klinikleri Publishing House and is not the responsibility of Blackwell Science Limited or the Society of Cosmetic Chemists.