

POMEN BARIERNE FUNKCIJE ZA ZDRAVJE NAŠE KOŽE

THE SKIN HEALTH AND THE ROLE OF EPIDERMAL BARRIER FUNCTION

AVTORICA / AUTHOR:

izr. prof. dr. Alenka Zvonar Pobirk, mag. farm.

*Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: alenka.zvonar-pobirk@ffa.uni-lj.si

ALI STE VEDELI?

- Da se dnevno s površine naše kože odlušči okoli 500 milijonov celic, ki predstavljajo pomemben delež hišnega prahu?
- Da ima voda na voljo dve možnosti za prehod iz živih delov povrhnjice v okolje – aktiven transport z znojenjem in pasivno difuzijo skozi intaktno roženo plast, s katero pri normalnih pogojih izgubimo okoli 400 ml dnevno?
- Da lahko z merjenjem transepidermalne izgube vode (TEWL) in pH zaznamo motnje v barierni funkciji kože, še preden se te izrazijo kot vidne spremembe na površini kože?

POVZETEK

Koža je naš največji organ, ki opravlja številne funkcije. Uravnava tudi izmenjavo snovi z okoljem in nas ščiti pred različnimi zunanjimi dejavniki. Učinkovita bariera, h kateri približno 90 % prispeva najbolj zunanja plast kože - rožena plast, je tako bistvena za zdravje ne le kože temveč celotnega telesa. Rožena plast z medsebojno povezanimi korneociti, njihovo poroženelo ovojnico in intercelularnimi visoko urejenimi lipidnimi dvosloji nadzoruje transdermalno absorpcijo ksenobiotikov in nas ščiti pred prekomerno izgubo vode skozi kožo. V prispevku so predstavljeni mehanizmi, ki sodelujejo pri vzdrževanju homeostaze kožne bariere, pa tudi nekatere motnje, ki lahko vodijo v razvoj različnih (vnetnih) obolenj kože. Na kratko so predstavljene tudi izbrane neinvazivne metode, ki omogočajo vrednotenje različnih, za barierno funkcijo kože pomembnih, parametrov kože *in vivo*. Tako omogočajo hitro diagnostiko in spremljanje učinkovitosti zdravljenja ali nege in imajo pomembno vlogo v razvoju in vrednotenju učinkovitosti novih dermatikov in izdelkov za nego kože.

KLJUČNE BESEDE:

barierna funkcija, diferenciacija keratinocitov, lipidi kože, pH kože, TEWL

ABSTRACT

The skin is our largest organ, fulfilling different functions. It serves as our primary defence system, regulating the exchange of substances with surrounding environment and protecting our body from various external factors. Effective epidermal barrier, which is crucial for the health of the skin and the entire body, resides predominantly (around 90 %) in the outermost skin layer - *stratum corneum*. The *stratum corneum* with its interconnected corneocyte embedded in a cornified envelope, and intercellular highly structured lipid bilayers largely controls the transcutaneous absorption of xenobiotics and regulates the transcutaneous water loss through the skin surface. Herein the mechanisms involved in barrier homeostasis regulation are presented, together with some disorders increasing the risk for the development of various (inflammatory) skin diseases. Selected non-invasive methods suitable for



in vivo monitoring of various skin parameters related to skin barrier function are presented briefly. They found their use in early diagnosis and monitoring of the therapy effectiveness, and have important role in the development and efficacy evaluation of new dermal products.

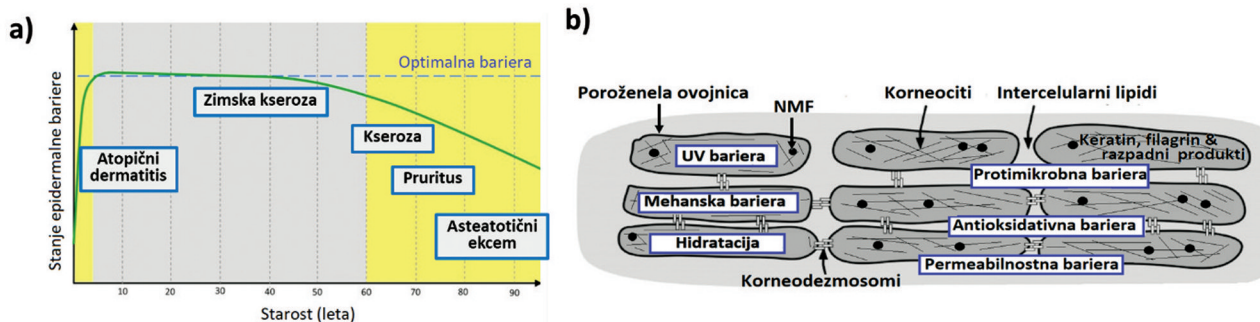
KEY WORDS:

barrier function, keratinocyte differentiation, skin lipids, skin pH, TEWL

1 UVOD

Koža, ki je naš največji organ, razmejuje notranjost telesa od okolice in se kontinuirano odziva na zunanje okolje z opravljanjem številnih zaščitnih in regulatornih funkcij. V prispevku se bomo omejili na barierno funkcijo kože, katere koncept sta v 20. letih 20. stoletja prva uvedla Marchionini in Schade, razvoj novih analiznih metod pa nam omogoča vse boljši vpogled v njeno delovanje in s tem kontinuirano nadgrajuje naše vedenje o koži. *Bariera* oz. *pregrada* po definiciji ločuje en prostor od drugega in/ali preprečuje prosto prehajanje med dvema okoljema. Kožna bariera

tako zagotavlja integriteto telesa in nadzoruje izmenjavo snovi z okoljem. Po najnovejših znanstvenih dognanjih je za preko 90 % barierne funkcije odgovorna povrhnjica, še zlasti rožena plast kot najbolj zunanji sloj kože. Zdrava koža nas ne ščiti le pred preobsežno izgubo vode, ionov in serumskih proteinov skozi površino ter vdorom mikroorganizmov in različnih snovi iz okolja v notranjost telesa (na primer površinsko aktivnih snovi, topil, ksenobiotikov, različnih alergenov), temveč nudi tudi zaščito pred drugimi zunanjimi stresnimi dejavniki. Povrhnjica pa ni popolnoma neprepustna niti za vodo, ki difundira iz globljih plasti kože, niti za snovi, ki jih nanašamo na njeno površino. Barierna funkcija kože se pri zarodku začne razvijati relativno pozno, in sicer pri gestacijski starosti okoli 34 tednov in ob rojstvu še ni popolnoma razvita. Slednje je razlog tako za povečano permeabilnost kože za eksogene snovi, kot tudi večjo dovzetnost za razvoj različnih obolenj v tem prvem obdobju življenja. S staranjem je kožna bariera podvržena vrsti strukturnih in funkcionalnih sprememb, ki lahko močno povečajo tveganje za razvoj suhe kože in s tem poslabšanje njene barierne funkcije (slika 1a). Z leti koža izgublja podkožno maščevje, zmanjša se biosinteza vezivnega tkiva, kar vodi v stanjšanje srednje plasti kože – usnjice. Dermalne papile se sploščijo, zato se zmanjša površina, preko katere poteka oskrba povrhnjice s hranili in kisikom. Zmanjša se tudi aktivnost žlez znojnic in lojnic, ki s svojimi izločki vplivajo na pH kože in vsebnost lipidov.



Slika 1: a) Spreminjanje barierne funkcije kože s staranjem. **b)** Shematski prikaz rožene plasti in njenih različnih zaščitnih funkcij. Korneociti, obdani s prečno premreženo poroženo ovojnico, nudijo mehansko in UV-zaščito ter sodelujejo pri vlaženju rožene plasti kože (voda se veže zlasti na keratin in komponente naravnega vlažilnega dejavnika). Intercelularni lipidi skupaj s korneociti zmanjšujejo permeabilnost rožene plasti in sodelujejo pri njenem vlaženju, predstavljajo pa tudi protimikrobno bariero in ščitijo kožo pred oksidacijo. Opisane zaščitne funkcije so tesno povezane, zato sprememba v eni lahko vpliva tudi na ostale. Prirejeno po: (4).

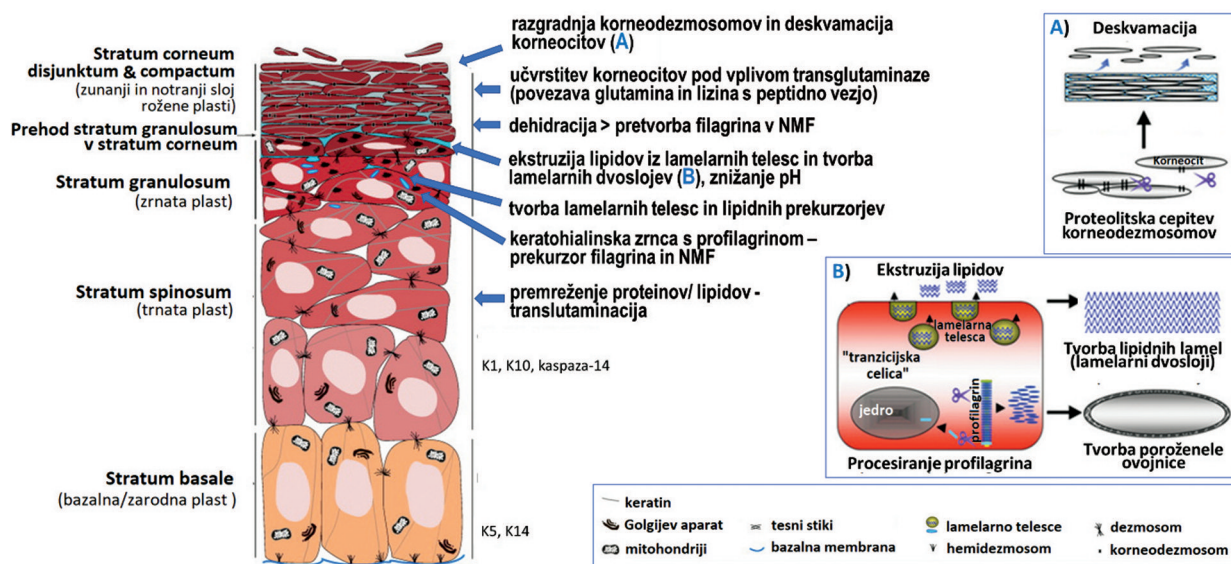
Figure 1: a) Dependence of skin barrier function on one's age. **b)** Schematic representation of stratum corneum and the location of its various protective functions. The corneocytes serve as mechanical and UV barriers and play a hydrating role in the stratum corneum by water binding to keratin and filaggrin & degradation products – natural moisturizing factor; NMF). Together with corneocytes the intercellular lipids perform the function of permeability barrier, contributing also to stratum corneum hydration. In addition, they perform the antimicrobial and antioxidant barriers. Presented protective functions are closely related, therefore modulation of one function can affect other functions. Adapted from: (4).

Vsebnost vlage v roženi plasti se s staranjem zmanjšuje, medtem ko se pH kože in transepidermalna iguba vode do določene mere povečata. Proučevanje različnih vidikov kožne bariere je zato nujno za razumevanje njenega delovanja. Poleg permeabilnostne bariere vloge je rožena plast pomembna za protimikrobno zaščito organizma, vzdrževanje ustrezne navlaženosti povrhnjice, zaščito pred UV-sevanjem, oksidativnimi procesi in mehanskimi vplivi (slika 1b) (1–3).

2 ROŽENA PLAST

Barierna funkcija kože zavisi predvsem od integritete rožene plasti, katere nastanek vključuje ključne korake, ki so predstavljeni na sliki 2. K barierni funkciji rožene plasti bistveno prispeva njena strukturna urejenost. Visoko urejene lipidne lamele kot »malta« izpolnjujejo izvencelični prostor med korneociti – »opekami«. Ko ploščate kožne celice – keratinociti na prehodu iz zrnate v roženo plast odmrejo, nastanejo brezjedrni korneociti, katerih notranjost je napolnjena s keratinskimi filamenti. K stabilnosti epidermalne bariere prispevajo tudi povezave med keratini in poroženelo ovojnico celic. Slednja je sestavljena iz 15–20 nm debelega sloja

prečno premreženih proteinov (predvsem involukrin, lorikrin in s serinom bogati majhni proteini) in zunanjega ~5 nm debelega sloja specializiranih lipidov. Za tvorbo korneocitov je zelo pomemben protein filagrin. Nastane kot produkt encimske razgradnje profilagrina v keratohialinskih zrnih zrnate plasti povrhnjice. Je pomemben strukturni protein, ki sodeluje v procesu agregacije keratina v keratinski matriks in katalizira njegovo premreženje s tvorbo kovalentnih disulfidnih vezi, manjši delež filagrina pa je vezan na proteine korneodezmosomov (lorikrin in involukrin), ki povežejo sosednje korneocite. Pomembno vlogo imajo tudi znotrajcelični razgradni produkti filagrina; tvorijo naravni vlažilni dejavnik (*ang. natural moisturizing factor; NMF*) kože in prispevajo k hidrataciji in kislemu pH rožene plasti, transurokanska kislina pa koži nudi tudi določeno zaščito pred UV-B žarki. Korneodezmosomi so ključni za integriteto rožene plasti. Neposredno so udeleženi tudi v procesu luščenja kože, ki ga uravnavajo v roženi plasti prisotni proteolitični encimi, katerih aktivnost je močno odvisna od ustrezne aktivnosti vode in vrednosti pH. Do 20 slojev korneocitov, med seboj tesno povezanih s korneodezmosomi, tako tvori odporno in prožno ogrodje za medcelične lipidne lamele in deluje kot rezervoar vlage, ki podpira encimske procese v roženi plasti kože. Nova znanstvena spoznanja v zadnjih desetletjih so nadgradila izvorno razumevanje rožene plasti kot inertnega sloja odmrlih celic, obdanih z medceličnim lipidnim matriksom (t. i. klasičen *model malte in opeke*, ki ga



Slika 2. Shematski prikaz zgradbe povrhnjice in opis ključnih korakov tvorbe rožene plasti. Prirejeno po (11, 12).

Figure 2. Schematic structure of the epidermis and crucial steps in formation of the stratum corneum. Adapted from (11, 12).

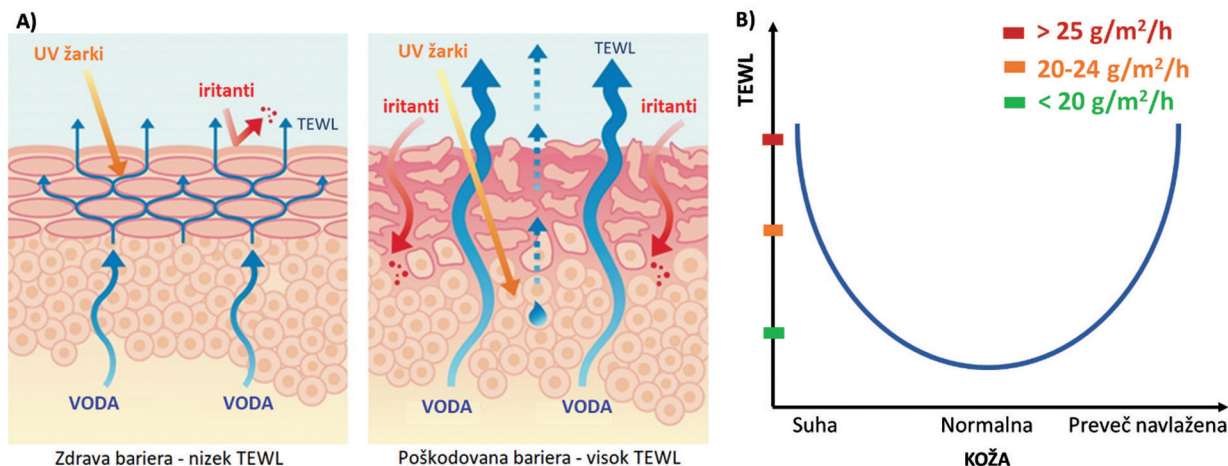
je l. 1983 uvedel Elias (5)), v sodoben koncept, po katerem je rožena plast dinamičen sistem, ki je metabolno aktiven in se odziva na zunanje dejavnike z regulacijo sinteze DNK in strukturnih proteinov, proteolize in transporta ionov. Rožena plast med drugim uravnava sintezo in dozorevanje lipidov, tvorbo NMF, razgradnjo korneodezmosomov in s tem proces luščenja in obnove povrhnjice. V primeru poškodbe kožne bariere, lahko tako korneociti kot keratinociti izločajo citokine (npr. interleukin-1 alfa), kar potrjuje tudi njihovo imunsko vlogo (6–10).

Pri zdravi koži korneociti v približno dveh tednih pripotujejo iz spodnjih slojev rožene plasti na površino kože. Njihov življenjski cikel se zaključi s procesom luščenja oz. deskvacije kože. V povprečju se dnevno odluči en sloj rožene plasti, ki ga nadomestijo novi keratinociti iz zrnate plasti kože. Skupaj s korneociti se odlučijo tudi mikroorganizmi, zato je deskvacija ob nizki aktivnosti vode, kislemu pH ter protimikrobnih peptidih, pomemben dejavnik, ki površino kože ščiti pred prekomerno kolonizacijo z mikroorganizmi. Med procesom deskvacije poteče razgradnja korneodezmosomov, s čimer inter- in intracelularni encimi rožene plasti (kalikreini ter cisteinske in aspartazne proteaze) olajšajo deskvacijo korneocitov. Na aktivnost teh enci-

mov in s tem proces deskvacije vplivajo predvsem ureditev lipidnih dvoslojev in aktivnost vode ter pH rožene plasti. Pri zdravi koži luščenje kože ni vidno s prostim očesom. Če je razgradnja korneodezmosomov motena (npr. v primeru luskavice ali suhe kože), pa se s površine zadebeljene rožene plasti luščijo med seboj še povezani korneociti, kar daje videz luskaste kože (13, 14).

2.1 HIDRATACIJA KOŽE IN NARAVNI VLAŽILNI DEJAVNIK

Ena glavnih funkcij kože je preprečevanje prekomerne izgube vode skozi površino telesa. Slednjo izgubljammo z dvema procesoma – z *znojem*, ki ga izločajo aktivirane žleze znojnice, in s *transepidermalno izgubo vode* (ang. *transepidermal water loss*; *TEWL*), ki kontinuirano poteka skozi celotno debelino povrhnjice. Obseg TEWL je tako tudi merilo za barierno funkcijo slednje, saj je vrednost TEWL neposredno odvisna od stanja kože. Za zdravo bariero so značilne nizke vrednosti TEWL, ki pa naraščajo sorazmerno z obsegom poškodbe epidermalne bariere. Za vzdrževanje ustrezne barierne funkcije (slika 3a) je odgovorna predvsem strukturna urejenost korneocitev in epidermalnih lipidov, ki



Slika 3. a) Zdrava koža z normalno barierno funkcijo prepreči prekomerno transepidermalno izgubo vode (vidno kot nizek TEWL) in poškodbe zaradi škodljivih zunanjih dejavnikov (levo). Poškodba bariere lahko vodi v prekomerno izgubo vode (vidno kot visok TEWL), zaradi patofizioloških sprememb v strukturi kože, ki je tudi slabše zaščitena pred zunanjimi dejavniki (desno). **b)** Barierna funkcija kože je lahko poškodovana tako pri tako suhi kot prekomerno navlaženi koži. Glede na vrednost TEWL ločimo kožo z normalno (< 20 g/m²/h; najboljše pod 8 g/m²/h), zmerno (20–24 g/m²/h) in močno (> 25 g/m²/h) poškodovano bariero. Prirejeno po: (16).

Figure 3. a) Healthy skin with normal barriers is able to retain water in epidermal layer (shown as low TEWL) and to resist the effects of possibly threatening external stimuli (left). A damaged skin barrier possibly will lead to excess loss of water (shown as high TEWL) because of pathophysiological changes in the structure of the skin, and offers limited protection against external stimuli (right). **b)** Dry as well as hyperhydrated skin may both result in impaired skin barrier. Based on TEWL values the skin barrier can be defined as normal (< 20 g/m²/h; best below 8 g/m²/h), and moderately (20–24 g/m²/h) or critically (> 25 g/m²/h) impaired. Adapted from: (16).

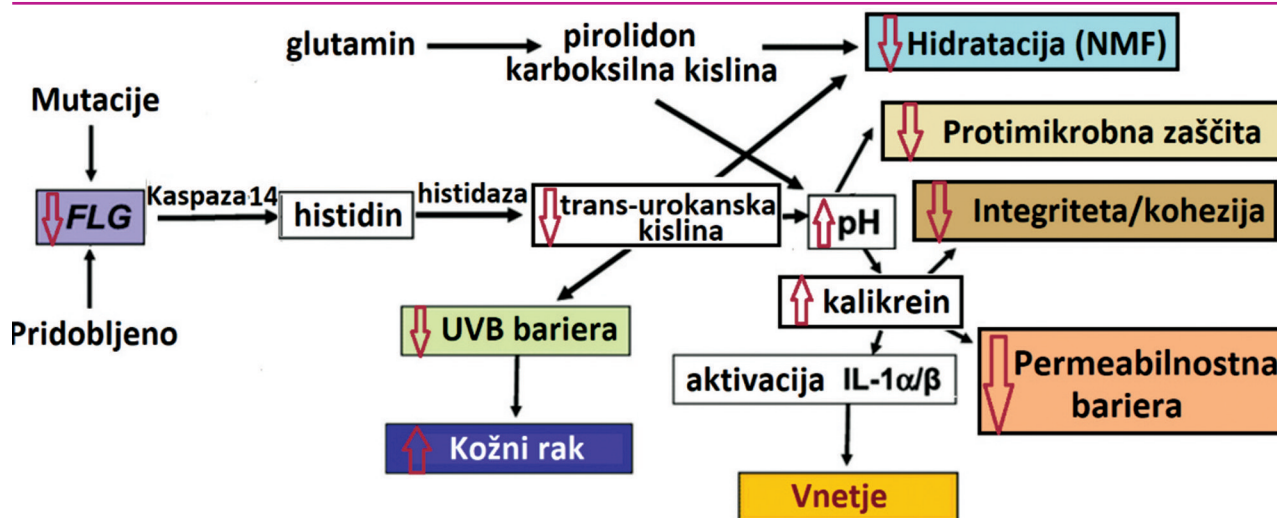
vzdržujejo dobro integriteto rožene plasti. Optimalna strukturna ureditev njenih osnovnih gradnikov je mogoča le v primeru, ko ni motenj v tvorbi rožene plasti in ko koža ni poškodovana zaradi vpliva zunanjih dejavnikov, kot so na primer suh in mrzel zrak in čistilna sredstva. Kot je razvidno iz slike 3b, je tako v primeru suhe in razdražene kože, značilne za kožni obolenji kot sta luskavica in atopijski dermatiti, kot tudi v primeru prekomerno navlažene kože, pri kateri prihaja do nabrekanja korneocitov in porušjenja urejene strukture rožene plasti, bariera poškodovana in so zato vrednosti TEWL visoke (14, 15).

Z vidika nadzora TEWL je pomembna tudi sposobnost povrhnjice, da proizvaja NMF, ki nastane kot produkt razgradnje filagrina in povečuje kapaciteto rožene plasti za vezavo vode. Ustrezna hidratiranost slednje je nujna za zdravje kože, saj vzdržuje fleksibilnost kože, ki je potrebna za zaščito pred mehanskimi poškodbami, uravnava aktivnost hidrolitičnih encimov, ki sodelujejo v procesu luščenja korneocitov, in prispeva k optimalni barierni funkciji rožene plasti. NMF se nahaja znotraj korneocitov in veže vodo, ki difundira iz spodnjih plasti povrhnjice, ter vlago iz atmosfere. Prekomerno izgubo vode skozi kožo omejujejo tudi tesni stiki (dezmosomi) med keratinociti v zrnati plasti povrhnjice (17, 18).

Novejša dognanja kažejo, da mutacije gena za profilagrin vodijo v razvoj bolezni, za katere sta značili suha koža in poškodovana kožna bariera (npr. ihtioza vulgaris in atopijski dermatitis – pri slednjem je mutacija tega gena najpomembnejši poznani dejavnik tveganja za razvoj bolezni) (slika 4). Do znižanja ravni epidermalnega filagrina lahko pride tudi pod vplivom okoljskih dejavnikov (nizka relativna vlažnost, UV-sevanje, izpostavljenosti iritantnom ipd.), sproščanja citokinov v koži (IL-4, IL-13, IL-17, IL-22, IL-25, IL-31, TNF α), okužb (humani papiloma virus, tinea corporis) in dermalne aplikacije nekaterih učinkovin (npr. retinoidne kisline) (17, 19, 20).

2.2 LIPIDI

Prostor med korneociti izpolnjujejo epidermalni lipidi, zlasti ceramidi (do 50 %), holesterol in njegovi estri (do 25 %) ter proste maščobne kisline (do 15 %), ki tvorijo ~15 % suhe mase rožene plasti. Urejeni so v lamelarne dvosloje in bistveno zmanjšajo permeabilnost rožene plasti (zlasti za vodo in elektrolite) in s tem prispevajo k njeni barierni funkciji. Lipidi rožene plasti se razlikujejo od tistih, ki tvorijo biološke membrane v drugih delih telesa. Ceramidi so heterogena



Slika 4: Posledice pomanjkanja filagrina pri atopijskem dermatitisu (označeno z rdečimi puščicami). Trans-urokanska kislina je najmočnejši endogeni UVB-filter v rahlo pigmentirani koži, zato lahko njeno pomanjkanje poveča tveganje za razvoj nemelanomskih kožnih rakov pri osebah z atopijskim dermatitisom. Razgradnja korneodezmosomov je odvisna od aktivnosti serinskih proteaz- kalikrein. Pri zdravi koži je vsebnost filagrina večja, kar rezultira v ravno obratnih odzivih, kot jih prikazujejo rdeče puščice (npr. več trans-urokanske kisline in pirolidondokarboksilne kisline prispeva k znižanju pH kože). Prirejeno po: (20).

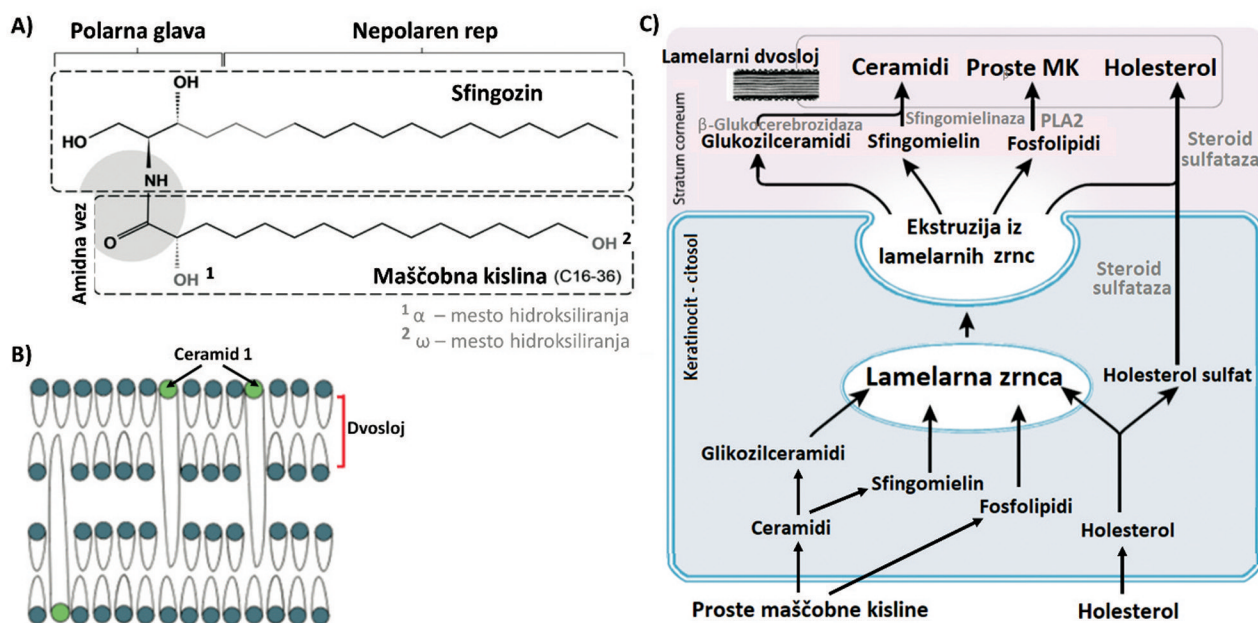
Figure 4: The interrelated consequences of filaggrin deficiency in atopic dermatitis (marked with red arrows). Trans-urocanic acid is the most potent endogenous UV-B filter in lightly pigmented skin, therefore its loss could account for the higher incidence of nonmelanoma skin cancers in atopic dermatitis. In healthy skin increased filaggrin values result in effects opposite to those marked with red arrows (e.g. more trans-urocanic acid and pirolidonkarboxylic acid result in decreased pH value). Adapted from: (20).

skupina lipidov, ki vsebujejo 6-hidroksi sfingoizin, na katerega je z amidno vezjo vezana (hidroksi) maščobna kislina (slika 5a). Dandanes poznamo že veliko predstavnikov ceramidov, še zlasti pa je prepoznana ključna vloga ceramida-1 pri organizaciji lipidnih dvoplasti. Kot najmanj polaren ceramid rožene plasti sega z dolgim nepolarnim repom, ki vključuje linolno kislino, iz enega dvosloja v drugega, ter tako poveča integriteto lipidnih lamel (slika 5b). K homogenosti in enotnosti rožene plasti bistveno prispevajo tudi kovalentne vezi med gradniki lipidnih dvoplasti in proteini, ki tvorijo poroženelo ovojnico korneocitov. Holesterol poveča fluidnost lipidnega matriksa in s tem njegovo fleksibilnost (2, 10, 21).

Večina lipidov rožene plasti izvira iz lamelarnih zrn, imenovanih tudi Odlandova telesca, ki vsebino iztisnejo v medcelični prostor zgornjega sloja zrnate plasti povrhnjice. Skupaj z lipidi se v zunajcelični prostor iztisnejo tudi encimi (glukocerebrozidaza, kislja sfingomielinaza in fosfolipaza A2), ki omogočajo njihovo pretvorbo v ceramide in proste maščobne kisline (slika 5c). To vodi v urejanje lipidov v lamelarne dvoplasti, ki so bistvene za barierno funkcijo kože,

ter sklop reakcij, ki rezultira v deskvamaciji odmrlih korneocitov s površine kože. Dandanes je znano, da iz lamelarnih zrn izvirajo tudi protimikrobni peptidi, proteaze in njihovi zaviralci ter druge za kožo pomembne spojine (npr. katepsin D). Raziskovalci predvidevajo, da lamelarna telesca izvirajo iz Golgijevega aparata, a točen mehanizem njihovega nastanka in ekstruzije vsebine v ekstracelularni prostor, na meji med roženo in zrnato plastjo, še ni dokončno pojasnjen in ostaja predmet nadaljnjih raziskav. Vemo pa, da igrajo pomembno vlogo pri tvorbi, vzdrževanju in obnovi barierne funkcije povrhnjice. Poškodbi epidermalne bariere takoj sledi ekstruzija lipidov iz lamelarnih zrn in povečanje njihove tvorbe v keratinocitih zrnate plasti kože. Poleg biosinteze lipidov se poveča tudi ekspresija različnih citokinov in sinteza DNK (4, 21, 22).

Poleg intercelularnih so v roženi plasti prisotni tudi lipidi, ki izvirajo iz sebuma. Slednjega žleze lojnice izločajo v zgornji del lasnih foliklov, od koder se nato razporeja na površino kože in sodeluje pri tvorbi kislega hidro-lipofilnega plašča. Razen po izvoru se sebum od intercelularnih lipidov razlikuje tudi po sestavi, in sicer vsebuje trigliceride (45 %) in proste



Slika 5: a) Osnovna strukturna formula ceramidov, ki so sestavljeni iz sfingoizina in maščobne kisline, ki sta povezana z amidno vezjo.

Maščobna kislina je lahko hidroksilirana na α- in ω-poziciji. b) Shematski prikaz umeščanja ceramida-1 v sosednje lipidne dvosloje. c)

Poenostavljena predstavitev glavnih (encimskih) procesov, ki so udeleženi pri nastanku lipidnih lamel rožene plasti. Prirejeno po: (10, 21).

Figure 5: a) Basic chemical structure of ceramides. They are composed of a sphingosine and a fatty acid, bounded by an amide linkage.

Additionally, the fatty acid contains positions for α- in ω-hydroxylation. b) Schematic presentation of ceramide 1 positioning into adjacent lipid bilayers. c) Simplified overview of main (enzymatic) processes involved in the formation of stratum corneum lipid lamellae. Adapted from:

(10, 21).

maščobne kisline (10 %), voske (25 %), skvalen (12 %), holesterol in estre sterolov (< 5 %). Proste maščobne kisline imajo pomembno vlogo tako pri vzdrževanju kislega pH na površini rožene plasti kot tudi homeostazi kožne bariere. Aktivnost lojnic je odvisna od letnega časa, predvsem pa od hormonov in starosti (manjša je v otroštvu in pri starostnikih, največja pa v puberteti – pri dekletih oz. v srednjih letih – pri moških). Zmanjšano izločanje sebuma je pomemben dejavnik v patogenezi suhe kože (kseroza) pri starostnikih ter pri atopijskem dermatitisu (22, 23).

2.3 KALCIJEVI IONI IN HOMEOSTAZA KOŽNE BARIERE

Kalcijevi ioni imajo pomembno vlogo ne le pri regulaciji diferenciacije keratinocitov in tvorbi medceličnih povezav v povrhnjici kože temveč tudi v homeostazi kožne bariere. Njegova porazdelitev v povrhnjici je nehomogena, in sicer je vzpostavljen gradient kalcija z najnižjo koncentracijo v proliferirajoči bazalni plasti in najvišjo v zgornjih slojih rožene plasti. Pomembno vlogo kalcija pri barierni funkciji kože potrjujejo številne študije, v katerih so proučevali odnos med homeostazo permeabilnostne bariere in koncentracijo kalcija v epidermisu. Tako vemo, da akutna poškodba epidermalne bariere kot posledica ekstrakcije lipidov z acetonom ali odstranitve več slojev rožene plasti z adhezivnimi trakovi, vodi v takojšnje znižanje znotrajcelične koncentracije kalcija v zrnati plasti. Stanje se normalizira v roku ~24 h, kar sovpada z obnovo epidermalne bariere. Poškodba torej spodbudi proces obnove bariere, ki je v prisotnosti večje znotrajcelične koncentracije kalcija zavrt. Tudi po izpostavitvi kože sonoforezi ali iontoforezi, ki se uporabljata za premagovanje bariernega upora kože in dermalno dostavo učinkovin, pride do znižanja koncentracije kalcija v zgornjih plasteh povrhnjice. V teh primerih z merjenem TEWL niso zaznali poškodbe kožne bariere, so pa na meji med zrnato in roženo plastjo opazili povečano izločanje lipidov iz lamelarnih zrn in povečano tvorbo le-teh. Slednje nakazuje, da lahko nižje znotrajcelične koncentracije kalcija v povrhnjici aktivirajo homeostatske regulacijske procese tudi v primeru, ko permeabilnostna bariera ni okrnjena. To potrjuje tudi dermalna aplikacija kelatorjev kalcijevih ionov, ki v zdravi koži sproži homeostatski odziv, vključno s porušenjem gradienta kalcija in obsežnejšim izločanjem lipidov. Motnje v epidermalnem gradientu kalcija so tudi klinično pomembne, in sicer so prisotne pri luskavici in ihtiozi, vezani na kromosom X. Za obe patološki stanji je značilna tudi poškodba barierne funkcije kože (2, 4).

2.4 PH VREDNOST POVRŠINE KOŽE IN HOMEOSTAZA KOŽNE BARIERE

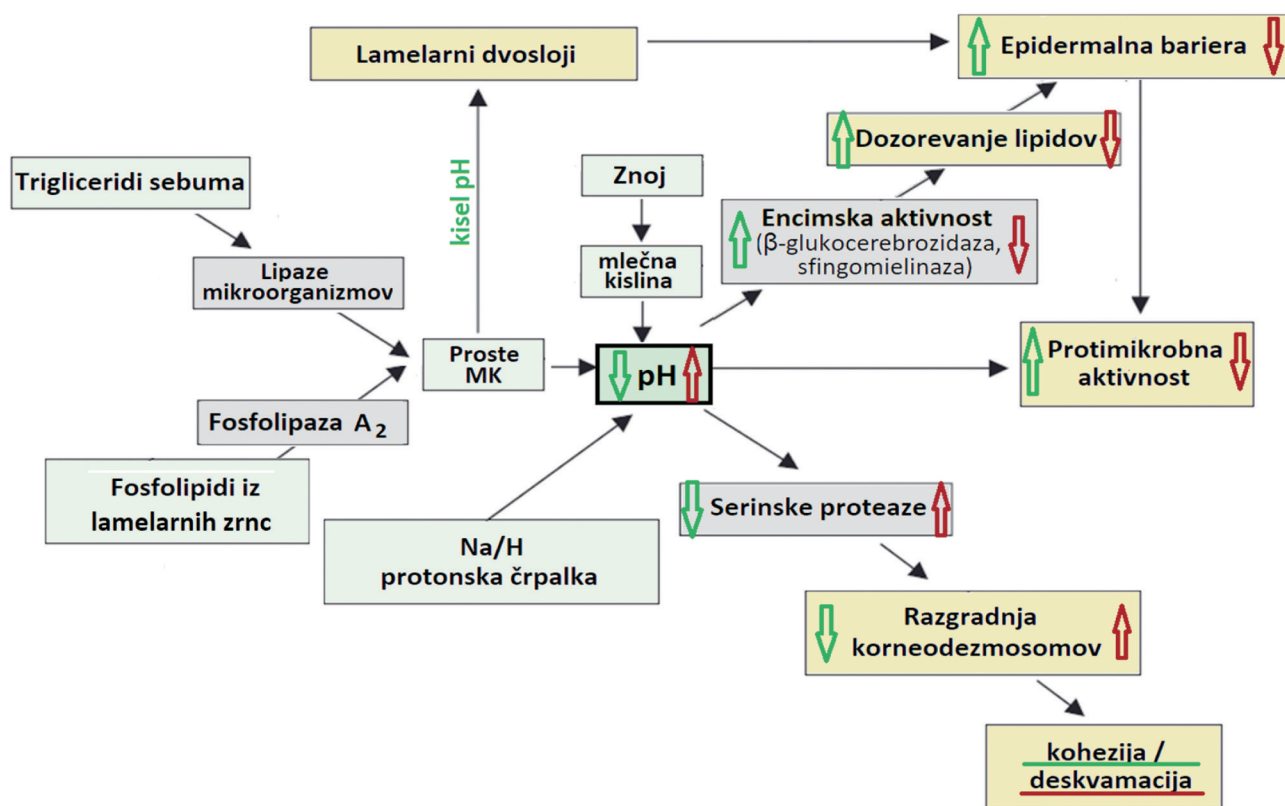
Površina zdrave kože je kislá, s pH vrednostjo med 4 in 6, najpogosteje med 4,5 in 5,5. pH narašča proti globljim plastem kože do pH nevtralnega območja, s čimer se skozi celotno debelino kože ustvari gradient pH vrednosti. Eksogeni in endogeni dejavniki, ki vplivajo na vzpostavitev kislega pH v roženi plasti, so predstavljeni na sliki 6. Kisla površina kože slednjo ščiti pred čezmerno kolonizacijo z mikroorganizmi, predvsem patogeni kot *S. aureus*, ki jim ustreza pH nevtralnó okolje. pH kože je pomemben tudi za uravnavanje aktivnosti encimov, ki so vključeni v proces tvorbe rožene plasti in vzpostavitev ter vzdrževanje kožne bariere (1).

Dozorevanje lipidov, ki jih lamelarna zrnca iztisnejo v izvencelični prostor, in vzpostavitev lamelarnih lipidnih struktur, ki bistveno prispevajo k barierni funkciji rožene plasti, zahtevajo kisló mikróokolje. Najpomembnejša encima, ki sta vključena v sintezo ceramidov, sta optimalno aktivna pri pH 5,6 (β -glukocerebrozidaza) oz. 4,5 (kislá sfingomielinaza), njuna aktivnost pa se z višanjem pH zmanjšuje. Kislo okolje (pH 4,5–6) je pomembno tudi za delno ionizacijo prostih maščobnih kislin, ki so pomembne za urejanje epidermalnih lipidov v lamelarne tekoče kristalne strukture. V več raziskavah so potrdili, da dvig pH na površini zdrave kože vodi v poškodbo kožne bariere, kar je povezano z zmanjšano aktivnostjo encimov, ki sodelujejo pri sintezi ceramidov, ter povečano aktivnostjo serinskih proteaz. Slednje vpliva na integriteto, kohezijo in deskvamacijo rožene plasti, saj je aktivnost serinskih proteaz (kalikrein 5 in kalikrein 7) največja pri nevtralnem pH, zato je pri tem pH največja tudi razgradnja dezmozoleina 1 in s tem korneodezmomov. V primeru atopijskega dermatitisa je povečana aktivnost serinskih proteaz povezana tudi s sproščanjem citokinov in vnetjem (slika 6) (24–27).

3 (VNETNA) BOLENJA KOŽE IN BARIERNA FUNKCIJA KOŽE

Motnje v delovanju kožne bariere so lahko posledica genetskih ali okoljskih dejavnikov, na osnovi česar ločimo primarne in sekundarne okvare kožne bariere. V obeh primerih koža teži k temu, da bi čim prej obnovila epidermalno barierno in zmanjšala TEWL, zato se sprožijo homeostatski procesi, ki vodijo predvsem v povečano tvorbo gradnikov





Slika 6: Endogeni in eksogeni dejavniki, ki sodelujejo pri vzdrževanju kislega pH rožene plasti kože, so označeni z zeleno barvo. Eksogena mlečna kislina, ki izvira iz žlez znojnic, in proste maščobne kisline, ki pod vplivom lipaz mikrobnega izvora nastanejo iz trigliceridov sebuma, ki ga proizvajajo žleze lojnice. Endogene proste maščobne kisline, se pod vplivom fosfolipaze A2 odcepijo od fosfolipidov; oboji izvirajo iz lamelarnih zrc, ki iztisnejo svojo vsebino na mejo med zrnat in roženo plastjo kože. Tudi Na⁺/H⁺ črpalka sodeluje pri vzdrževanju kislega pH rožene plasti, saj črpa H⁺ v medcelični prostor. Mehanizem, po katerem pH vpliva na spremenjeno permeabilnost in integriteto rožene plasti ter protimikrobno aktivnost, je označen z rumeno; zelene puščice kažejo procese, ki potekajo v zdravi koži z nizkim pH, rdeče puščice pa procese, ki jih sproži povišanje pH in vodijo v poškodbo epidermalne bariere (in vnetje). Prirejeno po: (4, 24, 28, 29).

Figure 6: The endogenous and exogenous factors affecting stratum corneum acidification are colored in green. Exogenous, lactic acid derived from sweat glands and free fatty acids catalyzed from sebaceous gland-originated triglycerol by microorganism-secreted lipases. Endogenous free fatty acids are derived from phospholipids by phospholipase A2, both of which are secreted by lamellar bodies at the stratum corneum - stratum granulosum junction. The Na⁺/H⁺ antiporter is also involved in maintaining the skin acid mantle by pumping H⁺ into extracellular compartment. The Mechanism of pH altering permeability and stratum corneum integrity and antimicrobial activity is colored with yellow; green arrows indicate the processes taking place in health skin with low pH, and the red arrows show the processes following increased pH and leading to barrier disruption (and inflammation). Adapted from: (4, 24, 28, 29).

rožene plasti – tj. korneocitov in izvenceličnih lipidov. Za ihtioze, veliko in heterogeno skupino bolezni kože, je značila primarna okvara kožne bariere, ki je posledica mutacij genov. Tudi pri luskavici in atopijskem dermatitisu se pojavljajo mutacije različnih genov, ki nosijo zapis za ključne komponente povrhnjice, sicer pa je zanju bolj značilna sekundarna okvara kožne bariere kot rezultat vnetnega procesa. Pomembno vlogo v patogenezah ihtioze, atopijskega dermatitisa in luskavice imajo mutacije v genu za filagrin, ki lahko

vodijo v zmanjšano sintezo ali popolno odsotnost filagrina v koži. Pri vseh treh se pojavljajo tudi motnje v tvorbi povezav med keratinociti in korneociti v zrnatih (dezmosomi) in roženi (korneodezmosomi) plasti kože. Za opisana vnetna obolenja kože so značilne tudi motnje v sestavi intercelularnih lipidov, večinoma ceramidov, maščobnih kislin in holesterola, kar vodi tudi v motnje v njihovi strukturni ureditvi. Pri atopijskem dermatitisu je zmanjšana sinteza vseh treh, za luskavico pa so značilne motnje v vsebnosti holesterola.

Vse naštetu se odraža tudi v pH vrednosti rožene plasti, ki je pri atopjskem dermatitisu povišana, za luskavico pa je značilna bolj kisla površina kože. V obeh primerih sprememba pH, skupaj z aktivnostjo vode, pomembno vpliva na aktivnost različnih encimov povrhnjice, ki so odgovorni za dozorevanje intercelularnih lipidov in razgradnjo korneodezmosomov, kar po različnih mehanizmih vodi v motnje kožne bariere (30–34).

4 IN VIVO VREDNOTENJE BARIERNE FUNKCIJE KOŽE

Dandanes se za vrednotenje bariernih in drugih lastnosti kože *in vivo* uporabljajo različne neinvazivne metode. Na sliki 7a je prikazanih nekaj biometričnih metod, s pomočjo katerih lahko pridobimo pomembne informacije o parametrih, vezanih na površino kože (zlasti količina sebuma, vrednost pH, parametre hrapavosti kože), povrhnjico (merjenje TEWL, vsebnosti vlage, barve) in usnjico (vrednotenje eritema, barve, prekrivitve, gostote vezivnega tkiva). Pomembne informacije o barierni funkciji kože pridobimo predvsem z merjenjem TEWL (slika 7b), pH in hidracije rožene plasti. Zaradi kompleksnosti strukture in funkcij kože najbolj popolno informacijo o kožni barieri dobimo s kombinacijo več različnih metod, ki jih uporabimo pri aklimatiziranih posameznikih in pri ustrezno nadzorovanih pogojih okolja (1).

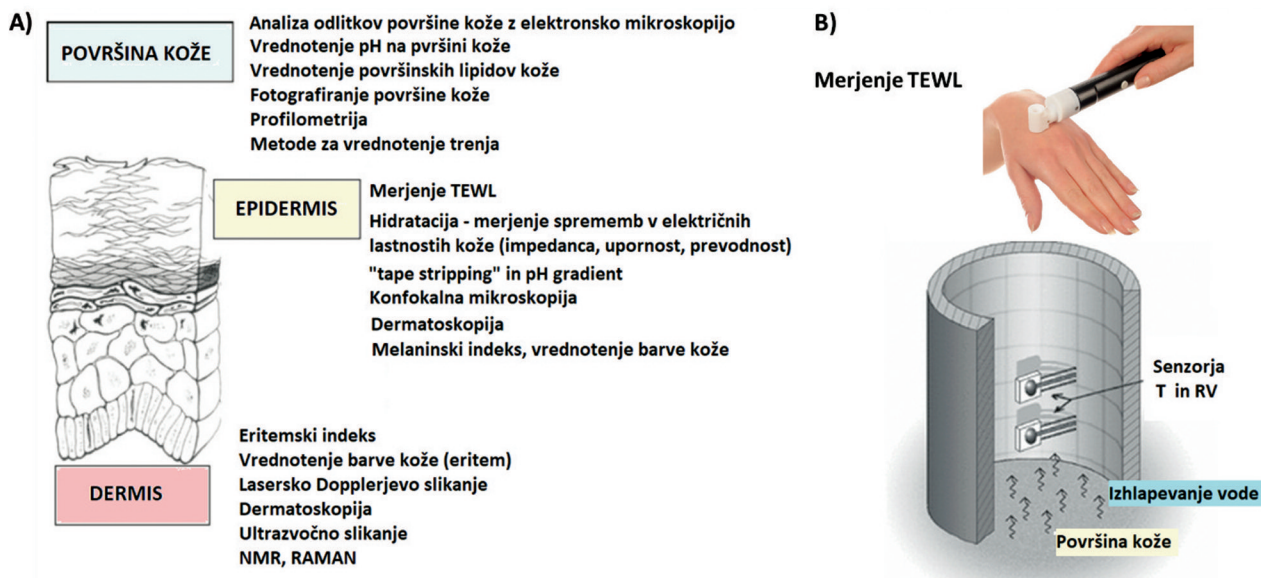
Vrednotenje barierne funkcije kože temelji na merjenju TEWL (opisana v poglavju 2.1), ki velja za eno najbolj zanesljivih metod. Zaželeno je, da so izmerjene vrednosti čim nižje, saj to kaže na dobro stanje kožne bariere. Da res dobimo kakovostno informacijo o stanju permeabilnostne bariere, je pomembno, da je preiskovana oseba pred meritvijo ustrezno aklimatizirana. Vodo izgbuljamo skozi površino kože tako transepidermalno (skozi celotno povrhnjico kože) kot skozi znojnice, zato je bistveno, da so v času vrednotenja barierne funkcije kože slednje neaktivne, saj sicer izmerimo lažno višjo vrednost TEWL. Sploh pri aparaturah z odprto celico (slika 7b) so zelo pomembni tudi pogoji merjenja. Temperaturo vzdržujemo pri 20 ± 1 °C, relativno vlažnost pa med 40 in 60 %. Meritve moti tudi intenzivno gibanje zraka v prostoru. Nizka relativna vlažnost je bistvena predvsem zato, da omogoča nemoteno izhlapevanje vode s površine kože, kar je nujen predpogoj za pridobivanje zanesljivih in točnih rezultatov. Vrednot TEWL ($v \text{ g/m}^2/\text{h}$) aparat izračuna na osnovi gradienta vlage, ki se vzpostavi nad površino kože, zato je pomembno, da izhlapelo vlago kontinuirano odvajamo iz

območja merjenja. Pri odprti celici se vlaga odvaja v ozračje, obstajajo pa tudi aparature z zaprto celico, kjer za odvod vlage skrbi kondenzator, ki pokriva celico in omogoči zamrzovanje vode. Obe aparaturi sta prenosni in ju lahko uporabljamo tudi v lekarnah, je pa aparatura z zaprto celico nekoliko manj občutljiva na okoljske pogoje. Še boljše informacijo o barierni funkciji kože pridobimo, če sočasno s TEWL merimo tudi hidratiranost rožene plasti in pH na površini kože. Določanje absolutne vsebnosti vlage v povrhnjici je zahtevno in zaradi kompleksnosti aparatov omejeno na raziskovalne laboratorije, zato se pogosteje poslužujemo tehnik, ki podajo informacijo o relativni vrednosti hidracije kože. Slednje temeljijo na uporabi prenosnih aparatov ter enostavnih in hitrih meritev, ki omogočajo lažjo dostopnost in širšo uporabo. Za zlati standard pri vrednotenju navlaženosti rožene plasti velja *Corneometer® CM 825*, za katerega je značilna dobra občutljivost pri nizkih vrednosti hidracije. Instrument meri spremembe v kapacitivnosti rožene plasti, predvsem zgornjih 10 μm . Merilno sondo položimo na kožo in po nekaj sekundah odčitamo rezultat, ki ga aparat poda v obliki t. i. *CM 825 delovnih enot (ang. arbitrary units; a.u.)*; na osnovi slednjih kožo ovrednotimo kot zelo suho (< 30 a.u.), suho ($30\text{--}40$ a.u.) ali normalno (> 40 a.u.). Na podobno enostaven način lahko določimo tudi pH kože. Značilno mesto za določanje pH je notranja stran podlahti, kamor položimo navlaženo ploščato elektrodo pH metra in izmerimo pH vodne raztopine na površini kože. Merjenje pH je sicer zelo občutljiva metoda, s katero lahko zaznamo značilen porast vrednosti pH, še preden se motnja v barierni funkciji kože odrazi v večji vrednosti TEWL ali vidnih spremembah na koži. Zanesljivost rezultatov je tudi v tem primeru odvisna od različnih dejavnikov, predvsem je bistveno, da pred meritvijo na kožo ne nanašamo čistilnih ali negovalnih izdelkov, ki (začasno) spremenijo pH kože (1, 15, 35, 36).

5 SKLEP

V skladu z modernim razumevanjem sestave rožene plasti slednja predstavlja dinamično bariero, ki nadzoruje osnovne interakcije našega telesa z okoljem, v katerem so pogosto prisotni dejavniki, ki ogrožajo integriteto kožne bariere. Poškodba slednje lahko vodi v razvoj vnetja in posledično različnih kožnih obolenj. Poglobljeno razumevanje procesov, ki sodelujejo pri vzpostavitvi barierne funkcije in vzdrževanju njene homeostaze, je pomembno za vzdrževanje zdravja





Slika 7. a) Nabor metod, ki omogočajo biometrično vrednotenje lastnosti kože na nivoju njene površine, povrhnjice (epidermisa) in usnjice (dermisa). b) Aparatura za merjenje transepidermalne izgube vode (TEWL) na osnovi odprte celice; merilno sondo položimo na površino aklimatizirane kože, da vodni hlapi difundirajo skozi odprto celico. Slednja je opremljena s senzorji za merjenje temperature in relativne vlažnosti, ki detektirajo gradient vlažnosti, ki se ustvari nad kožo. Prirejeno po: (15, 37, 38).

Figure 7. a) Bioengineering methods for the assessment of skin function at a surface, epidermal and dermal level. b) Open-chamber transepidermal water loss (TEWL) measuring device; the measuring probe (a hollow cylinder) is placed in contact with the acclimated skin, and water vapor diffuses through the open chamber. Spatially separated temperature and relative humidity sensors detect the humidity gradient. Adapted from: (15, 37, 38).

kože pa tudi iskanje novih pristopov zdravljenja bolezni, za katere so značilne motnje v epidermalni barieri. Različne neinvazivne metode, ki omogočajo biometrično vrednotenje kože *in vivo*, omogočajo, da lahko spremembe v delovanju bariere zaznamo zgodaj, še preden se te izrazijo v vidnih spremembah kože, pomembno vlogo pa imajo tudi pri razvoju dermatikov in spremljanju učinkovitosti dermokozmetičnih izdelkov. Poznavanje patofiziološkega ozadja razvoja obolenj in mehanizmov, udeleženi pri obnovi epidermalne bariere, omogoča, da razvijamo izdelke, ki nadomeščajo manjkajoče komponente v koži in podpirajo homeostazo kožne bariere. Pomen dobre nege za zdravje kože je danes znanstveno dokazan, zato jo težko precenimo.

6 LITERATURA

1. Darlenski R, Sassning S, Tsankov N, Flur JW. Non-invasive *in vivo* methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 295–303.
2. Darlenski R, Kazandijeva J, Tsankov N. Skin barrier function: morphological basis and regulatory mechanisms. *J Clin Med* 2011; 4(1): 36–45.
3. Danby SG. Biological Variation in Skin Barrier Function: From A (Atopic Dermatitis) to X (Xerosis). In: Agner T. *Skin Barrier Function, Section I: Basic Parameters*; Curr Probl Dermatol. Basel, Karger, 2016, vol 49: 47–60.
4. Lee SH, Jeong SK, Ahn SK. An Update of the Defensive Barrier Function of Skin. *Yonsei Med J* 2006; 47 (3): 293–306.
5. Elias PM. Epidermal lipids, barrier function and desquamation. *J Invest Dermatol* 1983; 80: 44–49.
6. Harding CR. The stratum corneum: structure and function in health and disease. *Dermatol Ther* 2004; 17 (1): 6–15.
7. McLean WHI: Filaggrin failure – from ichthyosis vulgaris to atopic eczema and beyond. *Br J Dermatol* 2016; 175(2): 4–7.
8. Wickett RR, Visscher MO. Structure and function of the epidermal barrier. *Am J Infect Control* 2006; 34(10): 98–110.
9. Denda M. Epidermis as the »Third brain«? *Dermatol Sin* 2015; 33: 70–73.
10. van Smeden J, Janssens M, Gooris GS, Bouwstra JA. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1841: 295–313.
11. Eckhart L, Lippens S, Tschachler E, Declercq W. Cell death by cornification. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833(12): 3471–3480.
12. Bugge TH, List K, Szabo R. Matriptase-dependent cell surface proteolysis in epithelial development and pathogenesis. *Frontiers in Bioscience* 2007; 12(13): 5060–5070.

13. Behne MJ, Brandner JM, Driesch P, Kirschner N, Poetzel C, Wladykowski E. Alteration of tight junction is an early event in psoriasis. *Am J Pathol* 2009; 175(3): 1095–1106.
14. Kim BE, Leung DYM. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2018; 10(3): 207–215.
15. Rawlings AV, Matts PJ, Anderson CD, Roberts MS. Skin biology, xerosis, barrier repair and measurement. *Drug Discov Today Dis Mech* 2008; 5(2): 127–134.
16. Van Leen MW, Hoeksema H and Schols JMGA MMRC (Alhydram®), an Interesting Treatment Option for a Disrupted Skin Barrier. *Gerontol Geriatr Med* 2021; doi: 10.24966/GGM-8662/100083.
17. Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WHI. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 2009; 122(9): 1285–1294.
18. Wang F, Ziemann A, Coulombe PA. Skin Keratins. *Methods Enzymol* 2016; 568: 303–350.
19. McLean WHI: Filaggrin failure – from ichthyosis vulgaris to atopic eczema and beyond. *Br J Dermatol* 2016; 175(2): 4–7.
20. Elias M, Wakefield JS. An integrated view of the epidermal environmental interface. *Dermatol Sin* 2015; 33(2): 49–57.
21. Cha HJ, He C, Zhao H, Dong Y, An IS, An S. Intercellular and intracellular functions of ceramides and their metabolites in skin. *Int J Mol Med* 2016; 38: 16–22.
22. Pappas A. Epidermal surface lipids. *Dermatoendocrinol* 2009; 1(2): 72–76.
23. Kim BE, Leung DYM. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2018; 10(3): 207–215.
24. Ali AM, Yosipovitch G. Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Derm Venereol* 2013; 93: 261–267.
25. Jacob SE, Panther DJ. The importance of acidification in atopic eczema: An underexplored avenue of treatment. *J Clin Med* 2015; 4(5): 970–978.
26. Bigliardi PL. Role of skin pH in psoriasis. *Curr Probl Dermatol* 2018; 54: 108–114.
27. Öhman H, Vahlquist A. The pH gradient over the stratum corneum differs in X-linked recessive and autosomal dominant ichthyosis: A clue to the molecular origin of the "Acid skin mantle"? *Society for Investigative Dermatology* 1998; 111 (4): 674–677.
28. Elias PM. Skin Barrier Function. *Curr Allergy Asthma Rep* 2008; 8(4): 299–305.
29. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 244–253.
30. Lee HJ, Lee SH. Epidermal Permeability Barrier Defects and Barrier Repair Therapy in Atopic Dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2014; 6(4): 276–287.
31. Gržinić J. Smernice zdravstvene nege pri obravnavi novorojenčka z ihtiozo. *Slov Pediatr* 2011; 18: 83–88.
32. Elias PM, Feingold KR, Williams ML. Abnormal barrier function in the pathogenesis of ichthyosis: Therapeutic implication for lipid metabolic disorders. *Clin Dermatol* 2012; 30(3): 311 – 322.
33. Sano S. Psoriasis as a barrier disease. *Dermatol Sin* 2015; 33: 64–69.
34. Cho YY, Kang HC, Lee HS, Lee JY, Seok JK, Yang G. Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci* 2020; 21(8): 2867.
35. van Rensburg S J, Franken A, Du Plessis JL. Measurement of transepidermal water loss, stratum corneum hydration and skin surface pH in occupational settings: A review. *Skin Res Technol* 2019; 25:595–605.
36. Antonov D, Schliemann S, Elsner P. Methods for the Assessment of Barrier Function. In: Agner T. *Skin Barrier Function*; *Curr Probl Dermatol*, Karger, 2016, 49: 61–70.
37. Internetni vir: <https://www.courage-khazaka.de/en/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/172-tewameter-e> (dostopano: 1.7.2021).
38. Imhof RE, De Jesus EP, Ciortea LI, Berg EP. Closed-chamber transepidermal water loss measurement: microclimate, calibration and performance. *International Journal of Cosmetic Science*. 2009; 31, 97–118.

