

# Izazovi i mogućnosti peroralne primjene biljnih sastavnica u fotozaštiti kože

---

Škrinjar, Dejana

Professional thesis / Završni specijalistički

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:668475>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Dejana Škrinjar

IZAZOVI I MOGUĆNOSTI PERORALNE PRIMJENE BILJNIH SASTAVNICA U FOTOZAŠTITI KOŽE

Specijalistički rad

Koprivnica, srpanj 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Dejana Škrinjar

IZAZOVI I MOGUĆNOSTI PERORALNE PRIMJENE BILJNIH SASTAVNICA U FOTOZAŠTITI KOŽE

Specijalistički rad

Koprivnica, srpanj 2023.

Poslijediplomski specijalistički studij: Dermatofarmacija i kozmetologija

Mentor rada: Prof. dr. sc. Dubravka Vitali Čepo

Specijalistički rad obranjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_

4. \_\_\_\_\_

5. \_\_\_\_\_

Rad ima 158 listova.

Ovaj specijalistički rad izrađen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Dubravke Vitali Čepo.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Dubravki Vitali Čepo na ukazanom povjerenju i pomoći u obliku stručnih savjeta te redovitih konzultacija tijekom izrade ovoga rada.

Zahvaljujem svim kolegama studentima na suradnji, a najviše profesorima na stručnosti i povjerenju tijekom trajanja cijelog studija.

## SAŽETAK

### **Cilj istraživanja:**

Osnovni cilj provedenog istraživanja je provesti sustavni pregled dostupnih literaturnih podataka o učinkovitosti i sigurnosti peroralne primjene različitih biljnih sastavnica u ostvarivanju fotozaštite kože. Ovim radom dan je sistematski prikaz dosadašnjih saznanja o učinkovitosti, sigurnosti i ograničenjima peroralne primjene različitih biljnih sastavnica u fotozaštiti kože, a istraživanje se dodatno usredotočuje na pojašnjenja mehanizama fotozaštite i važnost režima doziranja za postizanje klinički značajnih učinaka. S obzirom na velik broj novijih istraživanja u tom području i nedostatak službenih smjernica, rezultati ovog rada značajno će doprinijeti kvaliteti provođenja ljekarničke skrbi u segmentu savjetovanja pacijenata o fotozaštiti.

### **Materijali i metode:**

Za izradu ovog specijalističkog rada korišteni su originalni znanstveni radovi, sustavni pregledi literature i meta-analize te ostala stručna i znanstvena literatura na engleskom jeziku. Podaci su dobiveni pretraživanjem bibliografskih baza podataka ScienceDirect i PubMed.

### **Rezultati:**

Provedeno istraživanje rezultiralo je sustavnim pregledom trenutnih saznanja o fotozaštitnim pripravcima namijenjenim za peroralnu primjenu, uz poseban osvrt na kvalitetu kliničkih dokaza te optimalne režime doziranja.

U ovom specijalističkom radu obrađene su bioaktivne sastavnice iz skupine karotenoida ( $\beta$ -karoten, likopen, astaksantin te lutein i zeaksantin), polifenola (nutrijenti iz piknogenola, kakaa, sjemenki grožđa, silimarina, paprati *Polipodium leucotomos*, šipka i zelenog čaja), vitamina (B<sub>3</sub>, C, D, E) te ostale sastavnice s mogućim fotozaštitnim djelovanjem (koenzim Q<sub>10</sub>, nezasićene masne kiseline, selen i probiotici).

Fotozaštitni učinak oralno primijenjenih nutrijenata prvenstveno se bazira na njihovom antioksidacijskom, protuupalnom, imunomodulatornom i antitumorskom djelovanju.

**Zaključak:**

Redovito korištenje sistemske fotozaštite može doprinijeti dugoročnoj zaštiti od UV zračenjem izazvanih oštećenja kože, iako je opseg zaštite koju pružaju oralno primijenjeni fotozaštitni nutrijenti varijabilan i klinički neusporediv s visokim zaštitnim faktorima topikalnih pripravaka. Dakle, primjena isključivo oralnih pripravaka ne pruža apsolutnu fotozaštitu, ne može zamijeniti topikalne pripravke za zaštitu kože od sunca i nije dovoljna zaštita od ozbiljnih stanja poput raka kože i solarnih keratoza. Oralna i topikalna fotozaštita su komplementarne strategije za postizanje učinkovite zaštite kože od sunca.

## SUMMARY

### **Objectives:**

The aim of this research is for a systematic review of available literary information about the efficiency and safety of orally administered herbal components in achieving photoprotection. This research systematically shows available knowledge about the efficiency, safety and limits of oral administration of herbal components in photoprotection, with a focus on clarifying mechanisms of action and the importance of dosage to achieve clinically relevant effects. Knowing about a great number of newly performed research in this area of interest and lacking official guidelines, the results of this review will significantly contribute to the quality of pharmaceutical care in advising about photoprotection.

### **Materials and methods:**

To write this work original scientific texts, reviews, meta-analyses and other professional and scientific literature in the English language were used. Information was achieved by searching bibliographical bases ScienceDirect and PubMed.

### **Results:**

Available publications, that process the efficiency of orally administered bioactive compounds in photoprotection, have been researched. This research resulted in a systemic review of photoprotective preparations for oral administration, with a special review on the quality of clinical evidence and optimal dosage.

This specialist thesis processes the nutrients in carotenoids ( $\beta$ -carotene, lycopene, astaxanthin, lutein and zeaxanthin), polyphenols (pycnogenol, cocoa, grape seed, silymarin, *Polypodium leucotomos* fern, pomegranate and green tea), vitamins (B<sub>3</sub>, C, D, E) and other nutrients with possible photoprotective effect (coenzyme Q<sub>10</sub>, unsaturated fatty acids, selenium and probiotics).

Photoprotection achieved with orally administered nutrients is obtained by their antioxidant, anti-inflammatory and antitumor effects.



**Conclusion:**

Regular usage of systemic photoprotection may contribute to more effective protection from skin damaging induced by UV irradiation, although the range of protection from orally administered photoprotective compounds may be variable and clinically incomparable with high skin protection factors in topical products. Therefore, complete photoprotection, sufficient to protect from serious conditions like skin cancer can't be achieved by using strictly oral preparations. Oral and topical photoprotection are to be considered complementary strategies for achieving effective protection from sun irradiation.

# Sadržaj

1	Uvod i pregled područja istraživanja.....	1
1.1	Spektar sunčevog zračenja.....	1
1.1.1	UV zračenje.....	1
1.1.2	Vidljivo zračenje.....	3
1.1.3	Infracrveno zračenje.....	3
1.2	Melanin i melanogeneza.....	4
1.2.1	Melanin.....	4
1.2.2	Melanogeneza.....	4
1.2.3	Fototipovi kože.....	6
1.2.4	Koža.....	7
1.2.5	Građa kože.....	7
1.3	Starenje kože.....	8
1.3.1	Intrinzično starenje.....	8
1.3.2	Ekstrinzično starenje.....	8
1.4	Štetni učinci sunčevog zračenja.....	9
1.4.1	Eritem.....	10
1.4.2	Fotostarenje kože.....	10
1.4.3	Pigmentacija kože.....	11
1.4.3.1	Melazma.....	11
1.4.3.2	Postupalne hiperpigmentacije.....	12
1.4.4	Fotokancerogeneza.....	12
1.4.4.1	Nemelanomski tip tumora kože.....	13

1.4.4.2	Melanom.....	14
1.4.5	Fotostarenje .....	15
1.4.6	Upala.....	15
1.4.7	Narušena funkcija imunološkog sustava .....	16
1.5	Oksidacijski stres.....	19
1.5.1	Antioksidansi.....	20
1.5.2	Slobodni radikali.....	21
1.6	Zaštita kože od sunčevog zračenja .....	22
1.6.1	Zaštitna odjeća.....	22
1.6.2	Topikalna zaštita od sunčevog zračenja .....	23
1.6.3	Sustavna zaštita od sunčevog zračenja.....	24
2	Cilj istraživanja .....	25
3	Materijali i metode – sustavni pregled saznanja o temi.....	26
3.1	Sistemska fotozaštita .....	26
3.1.1	Karotenoidi.....	26
3.1.1.1	Provitamin A aktivnost karotenoida.....	27
3.1.1.2	Farmakokinetika karotenoida .....	28
3.1.1.3	Mehanizam djelovanja .....	30
3.1.2	$\beta$ -karoten .....	32
3.1.2.1	Mehanizam djelovanja .....	34
3.1.2.2	Učinak na eritem.....	35
3.1.2.3	Doziranje $\beta$ -karotena.....	36
3.1.3	Likopen .....	36

3.1.3.1	Mehanizam djelovanja .....	37
3.1.3.2	Učinak na eritem i vidljive znakove fotooštećenja kože .....	38
3.1.3.3	Doziranje likopena .....	40
3.1.4	Astaksantin .....	40
3.1.4.1	Mehanizam djelovanja .....	42
3.1.4.2	Učinak na eritem i vidljive znakove oštećenja kože .....	44
3.1.4.3	Doziranje astaksantina .....	46
3.1.5	Lutein i zeaksantin .....	47
3.1.5.1	Mehanizam djelovanja .....	49
3.1.5.2	Učinak na vidljive znakove oštećenja kože .....	50
3.1.5.3	Doziranje luteina i zeaksantina .....	52
3.1.6	Polifenoli .....	52
3.1.6.1	Piknogenol .....	54
3.1.6.2	Polifenoli sjemenke kaka .....	57
3.1.6.3	Polifenoli sjemenke grožđa .....	62
3.1.6.4	Silimarini .....	65
3.1.6.5	Paprat <i>Polipodium leucotomos</i> .....	66
3.1.6.6	Nar .....	71
3.1.6.7	Zeleni čaj .....	73
3.1.7	Vitamini .....	77
3.1.7.1	Vitamin B <sub>3</sub> .....	77
3.1.7.2	Vitamin C .....	82
3.1.7.3	Vitamin E .....	83

3.1.7.4	Vitamin D.....	86
3.1.8	Ostali fotozaštitni spojevi.....	89
3.1.8.1	Koenzim Q10.....	89
3.1.8.2	Omega-3 i omega-6 masne kiseline .....	91
3.1.8.3	Selen.....	92
3.1.8.4	Probiotici .....	93
3.2	Proizvodi na tržištu.....	95
4	Rasprava .....	102
5	Zaključak.....	112
6	Referencije.....	113
7	Životopis.....	145

# 1 Uvod i pregled područja istraživanja

Prekomjerna izloženost kože zračenju iz UV dijela spektra rezultira pojavom neželjenih kutanih učinaka, koji mogu biti razna degenerativna i maligna oboljenja kože. U vidljiva oštećenja kože ubrajamo opekline od sunca, fotostarenje, nastanak hiperpigmentacija i pojavu alergija, a u nevidljiva oštećenja ubrajaju se oštećenja DNA koja se javljaju uslijed oksidacijskog stresa i upale. UVA zrake prodiru duboko u *dermis* te izazivaju trajna oštećenja u vidu smanjenja vlažnosti, čvrstoće i elastičnosti kože. UVB zrake oštećuju *epidermis* gdje dovode do pojave oksidacijskog stresa, upale i alergijskih reakcija [1].

Fotozaštita se postiže topikalnom primjenom UV filtera i različitih kategorija kozmetika te peroralnom primjenom sastavnica s fotozaštitnim učinkom. UV filteri se, da bi bili učinkoviti, moraju nanositi učestalo i u dostatnoj količini. U praksi se uglavnom nanose u pretankom sloju i ne obnavljaju se dovoljno često, čime se učinak bitno smanjuje. Stoga se sve više preporučuje kombinirana primjena topikalnih i oralnih pripravaka s fotozaštitnim učincima.

Pripravci za peroralnu primjenu najčešće sadrže sastavnice biljnog podrijetla koje ubrajamo u skupinu vitamina, karotenoida, polifenola, masnih kiselina i dr. ili ekstrakte biljaka kompleksnog kemijskog sastava koje sadrže fotozaštitne komponente. Kombinacijom različitih mehanizama djelovanja navedeni pripravci ostvaruju zaštitne učinke na *dermis* i *epidermis* [3, 4].

## 1.1 Spektar sunčevog zračenja

Elektromagnetsko zračenje iz UV, vidljivog i infracrvenog dijela sunčeve svjetlosti može imati biološki učinak na ljude. UV zračenje valnih je duljina od 200 – 400 nm, a čini svega 5% spektra. Vidljiva svjetlost čini 50% sunčevog spektra, a nalazi se na valnim duljinama 400 – 700 nm. Od infracrvene svjetlosti sastoji se 45% spektra, a valne duljine zraka su 760 nm – 1 mm [3, 4].

### 1.1.1 UV zračenje

Sunčev UV spektar dijeli se na 3 područja ovisno o valnim duljinama zračenja, a to su UVC zrake (200 – 290 nm), UVB zrake (290 – 320 nm) i UVA zrake (320 – 400 nm) [5]. Razlikuju se prema mogućnosti prodiranja od površinskih prema dubljim slojevima kože, a to svojstvo ostavlja određene posljedice na

ljudskoj koži. Kumulativan učinak UV zračenja manifestira se kao fotostarenje, imunosupresija, nastanak fotodermatoza i fotokancerogeneza pri čemu se javlja povećan rizik od nastanka karcinoma bazalnih stanica, skvamoznih stanica i melanoma. Prema podacima organizacije *Skin cancer foundation* 96% raka kože nemelanomskog tipa i 86% melanoma povezani su sa zračenjem iz UV dijela sunčevog spektra.

UVC zračenje većinom se apsorbira u ozonskom omotaču u Zemljinoj atmosferi i uglavnom ne dopijeva do površine Zemlje. Takvo mutageno zračenje visoke energije i kraćih valnih duljina može prodrijeti u kožu do dubine 60 – 80  $\mu\text{m}$  i oštetiti molekule DNA.

UVB čini oko 5% sveukupnog UV zračenja te može prodrijeti u kožu do dubine 160 – 180  $\mu\text{m}$ , kroz *epidermis* do gornjih slojeva *dermisa* [3, 4]. Jednim dijelom, UVB zrake apsorbiraju se u stanicama *epidermisa* (u pigmentima, proteinima, nukleinskim kiselinama), stoga ne prodiru duboko kroz *dermis* [6]. UVB zračenje uglavnom utječe na *epidermis* i epidermalne keratinocite, koji u komunikaciji s fibroblastima olakšavaju endogena i egzogena oštećenja. Reakcije izazvane UVB zračenjem su trenutne i rezultiraju oslobađanjem upalnih medijatora (histamina, serotonina, prostaglandina), koji izazivaju dilataciju kapilara te uzrokuju eritem i edem [7]. UVB zračenje je glavni uzročnik tipičnih opekotina od sunca koje se manifestiraju nekoliko sati nakon izlaganja zračenju, a kulminiraju 18 – 24 sata od izlaganja [8]. Ovo zračenje osim crvenila kože izaziva i tamnjenje kože, poremećaje u pigmentaciji te biološke učinke poput stvaranja velikih količina slobodnih radikala, koji izazivaju oksidacijski stres i stimuliraju kroničnu upalu, preuranjenog starenja kože, oštećenja staničnih makromolekula (nukleinskih kiselina, lipida i proteina) i brojnih učinaka na imunološki sustav [3, 4]. Apsorbirajući se u kožu direktno oštećuje DNA stvarajući CPD i pirimidin 6-4 pirimidone. Bolesti poput raka kože melanomskog i nemelanomskog tipa najčešće su posljedica zračenja iz UVB spektra [4], stoga to zračenje može biti inicijator tumora, promotor tumora i ko-kancerogen [3].

Najveći udio u UV spektru ima UVA zračenje koje čini 95% spektra [9]. Najduljih je valnih duljina i djelomično se prekriva s valnim duljinama vidljivog dijela spektra [6]. Ovo zračenje prodire kroz *epidermis* do spoja *dermisa* i *epidermisa* [10] te duboko u *dermis*, do dubine 1000  $\mu\text{m}$ . Oštećuje DNA stvarajući pirimidinske dimere u manjoj količini, a smatra se da su za njegov mutageni i kancerogeni

učinak u najvećoj mjeri odgovorni reaktivni kisikovi spojevi (slobodni radikali). Stvaranjem velike količine slobodnih radikala, nastali oksidacijski stres izaziva oštećenje staničnih makromolekula poput proteina, lipida i DNA te je glavni uzročnik fotostarenja kože i imunosupresije. Degradira potporni sloj sačinjen od dermalnog kolagena i elastina odgovornih za čvrstoću i elastičnost kože [3, 4, 9]. UVA utječe na većinu stanica kože, a posebice keratinocite, melanocite, fibroblaste i stanice endotela krvnih žila [10].

Iako mnogi genetski i okolišni čimbenici mogu utjecati na razvoj kožnih bolesti, ipak je glavni faktor u njihovom nastanku kronična izloženost suncu [3]. Organ svakodnevno izložen utjecaju sunčeva spektra je koža, a ono na nju može imati pozitivne i negativne posljedice. Negativni aspekti izloženosti uglavnom su posljedica zračenja iz UV dijela spektra, a to su crvenilo i opekotine kože, fotostarenje, fotodermatoze, poremećaji pigmentacije (hipopigmentacija i hiperpigmentacija) te rak kože [2, 3, 11].

UV zračenje može djelovati i pozitivno na ljudsku kožu svojim antibakterijskim učinkom, stimuliranjem zacjeljivanja rana, poticanjem sinteze vitamina D [6] i ostvarivanjem pozitivnih učinaka na dermatološke poremećaje poput atopijskog dermatitisa i psorijaze [7].

### **1.1.2 Vidljivo zračenje**

Vidljivo zračenje iz sunčevog spektra može potaknuti nastanak hiperpigmentacija kože i melanogenezu potičući stvaranje slobodnih kisikovih radikala. Istraživanja pokazuju da ljudi s fototipovima kože IV do VI postižu tamnije i dugotrajnije pigmentacije kod izloženosti vidljivom svjetlu nego kod izloženosti UVA zračenju. Vidljivo svjetlo izaziva migraciju melanina iz bazalnog sloja kože do gornjih dijelova *epidermisa*, pa pigmentiranost traje do dva tjedna dulje nego kod izlaganja UVA zračenju [4].

Vidljivo zračenje plave valne duljine 100 puta jače potiče nastanak slobodnih radikala od zračenja crvene valne duljine [12].

### **1.1.3 Infracrveno zračenje**

Infracrveno zračenje možemo podijeliti prema dubini prodiranja u kožu na IRA, IRB i IRC zračenje. Veći dio infracrvenog zračenja otpada na IRA koje prodire u kožu do dubine 760 – 1,44 nm, penetrirajući duboko u *dermis* ljudske kože. IRB zračenje prodire do 1,44 – 3 nm, a IRC zračenje do



dubine 3 nm – 1 mm. Infracrveno zračenje također doprinosi preuranjenom starenju ljudske kože. Izaziva stvaranje slobodnih radikala, promjene u ekspresiji kolagena tipa I i elastina, oštećuje epidermalno-dermalni spoj u koži, potiče djelovanje enzima matriksne metaloproteinaza te utječe na ekspresiju gena izvanstaničnog matriksa. Dakle, doprinosi fotostarenju kože i upali [13].

## **1.2 Melanin i melanogeneza**

### **1.2.1 Melanin**

Melanin je pigment koji određuje boju kože. Kao endogeni faktor fotozaštite, apsorbira zračenje iz UV, vidljivog i infracrvenog dijela spektra, djeluje kao antioksidans i hvatač slobodnih radikala. Oštećenje kože izazvano sunčevim zračenjem i njezin oporavak signali su koji induciraju melanogenezu i epidermalnu pigmentaciju [14].

U epidermalnim melanocitima povećana je proizvodnja melanina kod izlaganja sunčevom zračenju, pa dolazi do tamnjenja kože [8].

Iako se za melanin uvijek smatralo da štiti kožu od oštećenja DNA nastalog UV zračenjem i nastanka raka kože, novija istraživanja pokazuju da postoji mogućnost da je i sam melanin kancerogen, jer i nakon izlaganja UV zračenju doprinosi stvaranju CPD spojeva. Kada je melanin izložen UV zračenju povećano je stvaranje superoksida i dušikovih oksida koji potiču raspad melanina te njegove derivate ekscitiraju u stanje visoke energije. Takvi derivati svoju energiju prenose na DNA pri čemu nastaju mutageni CPD spojevi [4].

### **1.2.2 Melanogeneza**

Melanin se proizvodi u stanicama melanocitima koje se uglavnom nalaze na epidermalno – dermalnom spoju, a potom se prenosi u susjedne stanice keratinocite. Melanociti sadrže stanične organele melanosome u kojima se sintetizira i skladišti melanin, a koji se zatim prenose u keratinocite produženim dendritima. U citosolu keratinocita melanosomi štite molekulu DNA od sunčevog zračenja. Odgovor kože na sunčevo zračenje ovisi o proizvodnji, distribuciji, tipu i količini melanina sintetiziranog u melanocitima i prenesenog u keratinocite [6].

Kao odgovor na UV zračenjem nastalo oštećenje DNA, keratinociti proizvode hormon stimulacije melanocita, koji se veže za melanokortin 1 receptor na melanocitima. Taj hormon stimulira melanocite za proizvodnju i otpuštanje melanina. Pigment melanin služi kao štit od UV zračenja i sprječava daljnja oštećenja DNA [15].

U melanosomima sinteza melanina počinje od amino kiseline L-tirozin, a ključni enzim u toj reakciji je tirozinaza. Enzim tirozinaza katalizira dvije uzastopne reakcije, a to su hidroksilacija L-tirozina u L-dopu te oksidacija L-dope u dopakinon. Dopakinon spontano ciklira u ciklodopu te oba redoks disproportioniranjem stvaraju dopu (nastaje iz dopakinona) i dopakrom (nastaje iz ciklodope). Iz dopakroma nastaje tamno smeđi eumelanin, a dopa se tirozinazom ponovo oksidira u dopakinon. Dopakrom se spontano dekarboksilira u smeđi DHI, a alternativno enzim dopakrom tautomeraza katalizira stvaranje crne DHICA. DHI i DHICA tirozinazom ili tirozinaza vezanim proteinom 1 oksidiraju u o-kinone čijom polimerizacijom nastaje eumelanin.

Dopakinon nastao iz L-dope može se također konjugirati s L-cisteinom ili glutationom pri čemu preko cisteinil-dope i benzotiazina nastaje feomelanin [6, 14]. DHI i DHICA se mogu oksidirati i u odsustvu enzima kisikom i slobodnim radikalima. Tijekom sinteze melanina dolazi do stvaranja nekih slobodnih radikala, uključujući  $\text{ONOO}^\cdot$ ,  $\text{O}_2$  i  $\text{NO}^\cdot$  koji imaju ulogu u indukciju melanogeneze [6, 16].

Stoga, ljudska koža sadrži dva tipa melanina: eumelanin i feomelanin. O njihovom omjeru u koži određujemo rasu i fototip kože prema Fitzpatricku. Eumelanin je pigment tamno smeđe do crne boje ovisno o omjeru DHI i DHICA. Izložen UV zračenju i vidljivom svjetlu pruža veću fotozaštitu od feomelanina zbog dobre apsorpcije zračenja i svojih antioksidacijskih svojstava. Feomelanin je pigment crvene ili žute boje, dominira kod ljudi sa svjetlijom kožom te s plavom ili crvenom kosom. Feomelanin, pri izlaganju UV zrakama, može lako stimulirati peroksidaciju lipida pri čemu nastaju velike količine slobodnih radikala i oštećenje molekule DNA. Može također stimulirati povećano stvaranje histamina te time pridonosi povećanju sunčevim zračenjem inducirano crvenila kože kod pojedinaca svijetle puti.

Pojava suncem induciranih karcinoma kože 70 puta je izglednija kod pripadnika bijele nego kod pripadnika crne rase. Melanin (posebno eumelanin) ponaša se kao fizička barijera koja štiti od UV

zračenja te kao apsorbirajući filter koji smanjuje penetraciju UV zračenja kroz *epidermis*. Tamnija koža koja sadrži više eumelanina bolje je zaštićena od UV zračenja nego svjetla koža, a eumelanin je učinkovitiji od feomelanina u fotozaštiti kože [6, 14].

Individualna osjetljivost prema eritematoznom UV zračenju određuje se parametrom MED, a to je doza zračenja potrebna za izazivanje crvenila kože 24 sata nakon izlaganja. MED doze su individualne, a ovise o unutarnjoj zaštiti kože melaninom i o tipu kože [8].

### **1.2.3 Fototipovi kože**

Količina melanina određuje boju kože, a djelomično je povezana i s tipom kože koji se kategorizira prema Fitzpatrickovoj skali fototipova od I do VI [8]. Klasifikacija fototipova prema Fitzpatricku pokazuje kako se koža pojedinaca s drugačijom pigmentacijom ponaša pri izlaganju sunčevom zračenju. Iako se oštećenje kože nakon izlaganja sunčevom zračenju kod svjetlijih tipova kože (fototipovi I - III) može lakše procijeniti, svi tipovi kože skloni su fotooštećenju.

Kod fototipova IV – VI izlaganje zračenju manje uzrokuje poremećaj fotostarenja, a izraženiji su poremećaji u pigmentaciji kože, poput postupalnih pigmentacija i melazme. Oni imaju veće melanosome s više melanina koji su individualno raspoređeni u melanocitima, a takvi melanosomi mogu apsorbirati 2 – 5 puta više UV zračenja nego melanosomi pojedinaca čija koža pripada u fototipove I – III i mogu pružiti određenu razinu zaštite od UVB zračenja.

Neovisno o pigmentaciji, UV zračenje može izazvati i oštećenje DNA radi nastanka oksidacijskog stresa i imunosupresije. Fototipovi IV – VI izloženi su manjem riziku od oštećenja DNA, a ono se uglavnom manifestira u gornjim slojevima *dermisa* dok se kod fototipova I – III oštećuje u svim slojevima kože radi razlike u dubini prodiranja UV zraka kod tamnijih fototipova.

U fototip I pripadaju ljudi s jako svjetlom kožom koji redovito izgore na suncu. Pripadnici fototipa II minimalno potamne pri izlaganju sunčevom zračenju te lako izgore. Fototip III opisuje ljude koji umjereno tamne i umjereno izgore kod izlaganja sunčevom zračenju. U fototip IV pripadaju pojedinci koji kod izlaganja suncu minimalno izgore, a lako tamne. Fototip V predstavlja ljude jako tamne kože

koji na suncu rijetko izgore i obilno tamne. Fototip VI opisuje ljude koji na suncu nikad ne izgore i obilno tamne [14, 17].

#### 1.2.4 Koža

Koža, kao vanjska barijera i najveći tjelesni organ površine 1.5 – 2 m<sup>2</sup>, štiti organizam od mehaničkog oštećenja i vanjskih čimbenika u koje ubrajamo štetne tvari, mikroorganizme, slobodne radikale i UV zračenje [6, 18]. Nadalje, ima ulogu u homeostazi vode, regulaciji tjelesne temperature i sintezi vitamina D, a za njezino normalno funkcioniranje potrebna je balansirana prehrana i unos određenih nutrijenata [3, 19]. Također, sadrži fotozaštitni pigment melanin koji ju apsorpcijom štiti od UVA, UVB i vidljivog zračenja te štetnog učinka na DNA epidermalnih stanica [6].

#### 1.2.5 Građa kože

Koža se sastoji od dva osnovna sloja, unutarnjeg sloja derme (lat. *dermis*) i vanjskog sloja, epiderme (lat. *epidermis*).

*Dermis* se sastoji od donjeg sloja (lat. *stratum reticulare*) i gornjeg sloja (lat. *stratum papillare*). *Stratum papillare* bogat je tankim kolagenskim vlaknima, dok se *stratum reticulare* sastoji od debljih kolagenskih vlakana [20]. *Dermis* je vezan na adipozno tkivo i na supkutano tkivo koje sadrži žlijezde znojnice, folikule dlaka i krvne žile [19]. Stanice fibroblasti koje se nalaze u *dermisu* imaju ulogu u sekreciji kolagena i elastina, a uz njih se u *dermisu* nalaze i endotelne, živčane i dendritičke stanice [20].

*Epidermis* je vanjski zaštitni sloj kože i sastoji se od mrtvih i oljuštenih stanica kože keratinocita. Te su stanice bogate keratinom, koji ima važnu ulogu u zaštitnom sloju kože [33, 20]. Keratinociti su raspodijeljeni u različite slojeve *epidermisa* ovisno o stupnju njihove diferencijacije. Najdublji unutarnji sloj *epidermisa* nazivamo bazalnim slojem (lat. *stratum basale*) u kojem stanice podliježu diferencijaciji. Proces diferencijacije (keratinizacije) provodi se prema vanjskom sloju kroz slojeve *epidermisa* koje nazivamo trnasti sloj (*stratum spinosum*) i zrnati sloj (lat. *stratum granulosum*). Tijekom tog procesa keratinociti izlaze iz staničnog ciklusa i postaju korneociti, stanice bez jezgre koje sadrže gusto pakiran keratin. Slijede slojevi koje nazivamo svijetli sloj (lat. *stratum lucidum*) i rožnati

sloj (lat. *stratum corneum*). *Stratum corneum* gornji je sloj *epidermisa* koji ima ulogu kožne barijere, a u njemu se stanice drže zajedno u lipidima bogatom izvanstaničnom matriksu [20].

Strukturni integritet kože primarno formira kolagen, ne topljivi vlaknasti protein koji se nalazi u veznom tkivu i dermalnom izvanstaničnom matriksu. Nastaje iz prokolagena, prekursora koji su kodirani genima iz dermalnih fibroblasta. U ljudskom tijelu, 85% prokolagena su tipovi I, II i III [21]. Uz kolagen, strukturalni protein izvanstaničnog matriksa je i elastin, a njihovo remodeliranje potiče angiogenezu i metastaziranje, a nastali oštećeni proteini potiču oksidacijski stres.

### **1.3 Starenje kože**

Na starenje kože utječu intrinzični (unutarnji) i ekstrinzični (vanjski) faktori.

#### **1.3.1 Intrinzično starenje**

Intrinzično starenje ubrzano je nakon tridesete godine života, a uglavnom je izazvano genetskim faktorima. S godinama se smanjuju metaboličke aktivnosti stanica poput kapaciteta endogenih antioksidacijskih enzima. Oni služe za eliminaciju oksidiranih biomolekula koje potiču akumulaciju unutarstaničnih slobodnih radikala i upalnih odgovora.

#### **1.3.2 Ekstrinzično starenje**

Ekstrinzično starenje posljedica je izlaganja faktorima iz okoliša, poput UV zračenja (fotostarenje).

Fotostarenje može izazvati histološke promjene u koži, koje se razlikuju od histoloških promjena nastalih kronološkim starenjem. U kronološki ostarjeloj koži nakupine kolagenskih vlakana su opuštena, kratka, tanke i neorganizirane, a *epidermis* je stanjen. Koža je tanja, suha, s tankim borama, obješena s benignim vaskularnim formacijama i izraslinama. Nasuprot tome, fotooštećena koža sadrži povišene fragmentacije elastina i kolagena radi povećanog stvaranja matriksnih metaloproteinaza. Povećan je broj upalnih stanica, a debljina *epidermisa* i morfologija epidermalnih stanica su neregularne. Potaknuta je i melanogeneza koja neutralizacijom slobodnih radikala djeluje kao fotozaštitni mehanizam od oštećenja kože. Koža je atrofična, s grubim borama, teleangiektazijom, nepravilnim pigmentacijama i dermatitisima izazvanim sunčevim zračenjem [21].

Izloženost UV zračenju može izazvati i nastanak upalnih poremećaja kože poput psorijaze i atopijskog dermatitisa kroz izloženost oksidacijskom stresu [9, 20].

#### **1.4 Štetni učinci sunčevog zračenja**

Ljudi su sve više izloženi brojnim vanjskim čimbenicima poput zagađenja zraka, sunčevog zračenja, promjenama temperature i vlažnost zraka, stresu i manjku sna. Navedeni čimbenici u velikoj mjeri utječu na zdravlje kože, a koža je izložena štetnim učincima sunčevog zračenja tijekom cijele godine. Osim UV zračenja, razlog štetnih učinaka na kožu može biti i zračenje iz vidljivog dijela sunčevog spektra [12].

Iako se UVB zračenje većinom apsorbira u *epidermisu*, a UVA zračenje prodire duboko u *dermis*, oba imaju utjecaj na stanice kože, keratinocyte i fibroblaste. UV zračenje potiče masovno stvaranje reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva interakcijom s endogenim kromoforima poput baza nukleinskih kiselina, aromatskih aminokiselina, NADP, porfirina, hema, 7-dehidrokolesterola, kinona, flavina, eumelanina i urokanske kiseline. Slobodni radikali sposobni su oksidirati stanične molekule, pri čemu nastaju oksidirani oblici lipida, proteina i lezije DNA (prekidi DNA lanca, umrežavanje DNA i proteina te promijenjene baze DNA). Nastali slobodni radikali, nestabilni oksidirani spojevi i DNA lezije mogu utjecati na razne stanične putove i ekspresiju brojnih gena poput upalnih citokina, matriksnih metaloproteinaza, MAPK te gena za pro- i antiapoptotičke putove. Te signalne molekule pokreću razvoj patoloških promjena u koži poput izmjene u proliferaciji i diferencijaciji epidermalnih stanica, smanjene sinteze kolagena, poticanja degradirajućih enzima izvanstaničnog matriksa u koje ubrajamo hijaluronidazu, kolagenazu i elastazu. Dugo i kronično izlaganje UV zračenju dovodi do akumulacije oksidacijski izmijenjenih molekula te može rezultirati upalama u koži, imunosupresiji, preuranjenom starenju kože (fotostarenju) [22], mutacijama, apoptozi i malignim transformacijama stanica koje vode kancerogenezi [1, 22].

Štetni učinci UV zračenja na kožu su eritem kože (crvenilo), pigmentacija kože, fotokancerogeneza i fotostarenje [23] koji su rezultat upale i narušene funkcije imunološkog sustava [18].

### **1.4.1 Eritem**

Eritem (crvenilo) kože javlja se kao fiziološki odgovor kože na pretjerano izlaganje UV zračenju [19]. Koža zahvaćena eritemom nastalim utjecajem UV zračenja karakterizirana je osjetljivošću, a mogu se javiti bolni mjehurići i opekline drugog stupnja [8]. Svojstvo UV zračenja u izazivanju nastanka eritema pada s duljim valnim duljinama. Potrebna je 1000 puta veća količina UVA zračenja da izazove isti jačinu eritema u usporedbi s UVB zračenjem. UVB zračenjem izazvan eritem javlja se oko 4 sata nakon izlaganja, najizraženiji je od 8 do 24 sata od izlaganja, a blijedi za nekoliko dana do nekoliko tjedana. Eritem izazvan UVA zračenjem javlja se neposredno nakon zračenja, za nekoliko sati blijedi te slijedi odgođeni eritem koji je najizraženiji nakon 24 sata. Eritem povezujemo s raznim staničnim i molekularnim promjenama, a posebice s nastankom apoptotičkih keratinocita [14].

### **1.4.2 Fotostarenje kože**

Kolagen, elastin i glikozaminoglikani glavne su strukture dermalnog izvanstaničnog matriksa. Starenjem dolazi do promjena u strukturama izvanstaničnog matriksa što se manifestira gubitkom elastičnosti kože, nastankom bora, suhoćom kože te narušenim zacjeljivanjem rana [21]. UV zračenje izaziva stvaranje slobodnih radikala koji potiču pojačano stvaranje matriksnih metaloproteinaza, a time i degradaciju izvanstaničnog matriksa. Dolazi do aktivacije signalnog put NF- $\kappa$ B koji inducira sintezu i sekreciju upalnih citokina poput IL-6 i TNF- $\alpha$ , a koji potom aktiviraju sintezu i sekreciju proteaza s degradirajućim učinkom na kolagen poput matriksnih metaloproteinaza [24]. UV zračenjem inducirani slobodni radikali aktiviraju i redoks-osjetljive transkripcijske faktore (AP-1, NF- $\kappa$ B, AhR) bitne za stimulaciju sinteze matriksnih metaloproteinaza, koje potom razgrađuju i degradiraju strukture dermalnog izvanstaničnog matriksa, a posebno prokolagene tipa I i III [1, 20, 21]. Istovremeno, zbog izlaganja UV zračenju sinteza kolagena smanjuje se i inhibicijom TGF- $\beta$  [21].

Proteolitičke enzime izvanstaničnog matriksa (matriksne metaloproteinaze i elastaze) stvaraju epidermalni keratinociti i fibroblasti. Njihove bazalne koncentracije povećavaju se sa starenjem, a dodatno se stvaraju i pod utjecajem štetnih zagađivača iz okoliša i UV zračenja, što rezultira fragmentacijom kolagena i proteina elastinskih vlakana [25].

Sinteza kolagena regulirana je vanjskim i unutarnjim čimbenicima, a bitnu ulogu u sintezi imaju TGF- $\beta$ , koji ubrzava stvaranje kolagena i AP-1, koji inhibira sintezu kolagena i ubrzava njegovu razgradnju [21].

Na izmjenu u ekspresiji TGF- $\beta$ , prevladavajućeg regulatora matriksnih metaloproteinaza, utječe UV zračenje koje potiče izmjene izvanstaničnog matriksa u fotostarenju kože i širenju tumora [25]. TGF- $\beta$  multifunkcionalni je citokin koji ima ključnu ulogu u regulaciji sinteze prokolagena te kao ključni regulator izvanstaničnog matriksa, sa svojim receptorom i Smad proteinom, formira TGF- $\beta$ /Smad signalni put. Inicira stanične aktivnosti specifičnim vezanjem za receptore na površini stanica te potom aktivira transkripcijski faktor Smad2/3. Fosforilirani Smad2 i Smad3 udruženi sa Smad4, provode signal u jezgru gdje naknadno induciraju transkripciju TGF- $\beta$  uzvratnih gena, poput prokolagena tipa I. Transkripcijski faktor Smad7 negativan je regulator koji posreduje aktivaciji Smad2/3 ulazeći u interakciju s receptorom za TGF- $\beta$ . UVB zračenje narušava put TGF- $\beta$ /Smad inhibicijom translokacije Smad2/3 u jezgru i potiče ekspresiju Smad7, što dovodi do smanjenog stvaranja prokolagena tipa I. Kolagen tipa I glavni je strukturalni protein u vezivnom tkivu kože, a sintetizira se iz prekursora prokolagena tipa I. Stoga je smanjenje količine prokolagena tipa I jedan od razloga fotostarenja [26].

### **1.4.3 Pigmentacija kože**

Hiperpigmentacije, poput melazme, najčešće pogađaju dijelove tijela koji su izloženi suncu. Osim sunčevog zračenja i ostalih vanjskih čimbenika, njihov nastanak potiču i kozmetička sredstva, neki lijekovi s fotosenzibilizirajućim djelovanjem, genetska predispozicija i hormoni [27].

#### **1.4.3.1 Melazma**

Melazma je stečena hipermelanoza koja se manifestira u obliku nepravilnih svjetlo do tamno smeđih mrlja, prvenstveno na mjestima izloženima suncu (lice, vrat i ruke). Najčešće se javlja kod žena reproduktivne dobi i kože fototipova IV do VI. Sunčevo zračenje stimulira hiperaktivnost melanocita i nastanak pigmenta što posljedično povećava tirozinom posredovanu melanogenezu i povećani prijenos melanosoma u epidermalne keratinocyte. To rezultira pigmentiranim mrljama na koži, a taj se proces može pojačati djelovanjem estrogena na oslobađanje hormona stimulacije melanocita [17]. Kod melazme se primjećuje i povećana ekspresija dermalnog CD34 proteina, markera koji je povezan s



povećanim brojem i veličinom krvnih žila. Angiogeneza se u melazmi klinički manifestira kao eritem i teleangiektazija. VEGF i endotelin-1 glavni su promotori angiogeneze u melazmi. VEGF stimulira oslobađanje arahidonske kiseline i njezinih metabolita što može potaknuti sintezu melanina [27].

#### **1.4.3.2 Postupalne hiperpigmentacije**

Postupalne hiperpigmentacije su stečene hiperpigmentacije koje se javljaju nakon kožne upale. Mogu nastati kod svih tipova kože, ali se najčešće javljaju u fototipovima IV-VI. Hiperpigmentacijske mrlje najčešće se pojavljuju na mjestu ozljede ili upale, a taj proces ubrzava sunčevo zračenje [17].

#### **1.4.4 Fotokancerogeneza**

Izlaganje UV zračenju izaziva oštećenje molekule DNA koja to mutageno zračenje apsorbira. Najozbiljnija posljedica UV zračenja rizik je od neoplazije, a kancerogeneza potaknuta UV zračenjem dugotrajan je proces [7]. Intenzivno isprekidano izlaganje suncu s čestim nastankom eritema pokazuje veći rizik za nastanak melanoma u usporedbi s kroničnim kontinuiranim izlaganjem koje češće povezujemo s nastankom aktiničkih keratoza i rakom kože nemelanomskog tipa [15]. Karcinom je bolest izazvana promjenama u određenim genima, čiji je rezultat nekontrolirana proliferacija stanica i gubitak normalnih kontrolnih mehanizama koji taj rast inhibiraju [25]. Prvi stupanj procesa kancerogeneze je izazivanje mutacija DNA. Ekscitacijom molekule DNA UV zračenjem nastaju specifični produkti poput CPD i pirimidin (6-4) pirimidon fotoproizvoda koji se formiraju na dipirimidinskim mjestima te oštećuju na UV zračenje osjetljiv nukleotid gvanin i izazivaju skraćivanja telomera [28]. Prolazak kroz barem jedan replikacijski ciklus rezultira fiksacijom mutacija i smetnjama u transkripciji i replikaciji DNA te zahvaćene stanice poprimaju karakteristike neoplastičnih stanica [29, 30]. Zatim slijedi progresija, pri čemu se povećava broj tumorskih stanica. U organizmu postoje i mehanizmi popravka molekule DNA koji su odgovorni za odstranjivanje štetnih fotoproizvoda poput popravka nukleotidne ekscizije. Ako taj sustav zakaže, dolazi do duplikacije mutacije DNA i nastaje tumor [7].

Tumor kože možemo kategorizirati kao melanomski i nemelanomski tip.

#### 1.4.4.1 Nemelanomski tip tumora kože

Nemelanomski tip tumora uključuje karcinom bazalnih i skvamoznih stanica kože i najčešća je maligna neoplazma u ljudi [3, 31]. Svjetla koža i pretjerano izlaganje UV zračenju glavni su faktori rizika u razvoju ove bolesti [32], a pridonijeti mogu i drugi faktori poput virusa i kemikalija [25]. Nemelanomski tip tumora, maligni je tumor melanocita koji nastaje iz keratinocita lociranih u bazalnom sloju *epidermisa* sa sposobnošću dijeljenja i ima veliku mogućnost razviti se u tumor. DNA keratinocita glavna je meta UV zračenja, a razlikujemo dvije vrste mutagenih DNA lezija. Dijelimo ih na formaciju CPD, od koji su najzastupljeniji timinski dimeri i formaciju 6-4 fotoproizvoda. Fotolezije molekule DNA mogu nastati i oksidacijom djelovanjem  $^1\text{O}_2$ , a biomarker koji je identificiran nakon takve fotosenzitizacije je 8-OHdG. Mnogi faktori utječu na proces razvoja mutacija i tumora kao što su dubina prodora UV zračenja, brzina podjele stanica, osjetljivost na transformaciju, stanični sustav obrane i sposobnost popravka DNA. Nastale fotolezije DNA akumuliraju se u *epidermisu* i izazivaju mutacije ako se stanice podijele prije nego što se molekula DNA popravi. Prema tome, sprečavanje nastanka mutacija ili ubrzavanje popravka fotooštećenja bitno je za zdravlje kože. Da bi se minimizirao broj mutacija, organizam je razvio mehanizam popravka DNA koji nazivamo popravak nukleotidne ekscizije. Popravak nukleotidne ekscizije prepoznaje razne oblike lezija molekule DNA, uključujući CPD i 6-4 fotoproizvode te ih popravlja mehanizmom izrezivanja i ponovnog uklapanja [25, 33]. Prvim korakom mehanizma nukleotidne ekscizije provodi se izrezivanje lezije, gdje pri višestrukim mjestima oštećenja dolazi do višestrukih prekida dvostruke uzvojnice DNA. Kao drugi korak provodi se istiskivanje lezija koje sadrže oligonukleotide te u prazninama nastaju novi dijelovi DNA lanca [28]. Nastali pirimidinski dimeri i posljedični ekscizijski popravak DNA lanca utječu na gen supresije tumora p53 koji potom u svojem mutiranom obliku u koži izaziva kronična oštećenja, aktiničke keratoze i rak kože. Mutirani p53 nalazi se u *epidermisu* i površinskim dermalnim fibroblastima te stanicama omogućava otpornost na apoptozu i mitozu bez prethodnog popravka DNA [25, 33]. UV zračenjem izazvane mutacije mogu izazvati promjene i u funkciji gena p53, a one predstavljaju važan korak za disregulaciju rasta epidermalnih stanica što dovodi do nastanka malignih stanica [34].

Protein p53 latentni je transkripcijski faktor sa sposobnošću vezanja na specifičnu DNA sekvencu. Aktivacijom se p53 fosforilira i translocira u jezgru gdje se veže na promotorske elemente ciljnih gena i regulira njihovu transkripciju. Geni transkripcijski aktivirani s proteinom p53 induciraju prekid staničnog ciklusa, popravak DNA, apoptozu te inhibiraju angiogenezu i metastaziranje. Stoga, protein p53 utječe na supresiju tumora zbog svoje sposobnosti održavanja kontrole normalnog rasta i stabilnosti genoma sprječavajući fazu G1 staničnog ciklusa i inducirajući apoptozu kao odgovor na stanični stres. Prekidom faze G1 staničnog ciklusa omogućuje se mehanizmima popravka stanice odstranjivanje potencijalne DNA lezije prije početka sinteze DNA i mitoze, a apoptoza inducirana proteinom p53 eliminira potencijalne preteče malignih tumorskih stanica [35].

Kaspaze su jedan od najosjetljivijih markera apoptoze. Možemo ih kategorizirati u inicijatorske (kaspaza-9) i efektorske (kaspaza-3). Aktivacija inicijatorske kaspaze posljedično vodi cijepanju ostataka aspartatske kiseline efektorskih kaspaza i njihovoj aktivaciji. Aktivirane kaspaze izazivaju kaskadnu reakciju morfoloških i biokemijskih promjena proteolitičkim cijepanjem ciljnih proteina koje su karakteristične za apoptozu u tkivima [36].

#### **1.4.4.2 Melanom**

Melanom je zbog svojeg brzog razvoja metastaza jedan od najagresivnijih tumora kože koji uglavnom zahvaća mlade i ljude srednje životne dobi. Od 25. godine incidencija se linearno povećava do 50. godine kada se smanjuje, posebice kod žena. Kod muškaraca je ipak incidencija nastanka tumora veća od 55. godine nadalje. UV zračenje, posebice UVB zračenje, glavni je faktor rizika za nastanak melanoma. Uz UV zračenje faktori rizika u nastanku melanoma su prirođeni i stečeni madeži te njihova veličina i vrsta i genetska predispozicija (7-15% melanoma). Melanom se uglavnom javlja na mjestima izloženim suncu poput glave, vrata i dorzalne regije gornjih ekstremiteta. Glavni genetski upravljači u nastanku melanoma su BRAF, NF1 i NRAS mutacije. Neki proteini poput matriksnih metaloproteinaza, a posebice MMP-2 i MMP-9 mogu ubrzati invaziju tumora degradacijom komponenata izvanstaničnog matriksa što olakšava tumoru širenje kroz krvotok. Najčešće somatske mutacije kod melanoma utječu na gene koji kontroliraju glavne stanične procese poput proliferacije (BRAF, NRAS i NF1), rasta i metabolizma (fosfataze i proto-onkogen receptor tirozin kinaze), otpornosti na apoptozu (protein p53),

kontrolu staničnog ciklusa (inhibitor ciklin ovisne kinaze 2A) i replikaciju (telomerazna reverzna transkriptaza). Te genomske promjene dovode do abnormalne aktivacije dva osnovna signalna puta u melanomu, a to su put MAPK i put (PI3K)/AKT [15].

#### **1.4.5 Fotostarenje**

Starenje kože karakterizirano je promjenama u strukturi dermalnog izvanstaničnog matriksa kojeg čine kolagen, glikozaminoglikani i elastin. UV zračenje izaziva nastanak slobodnih radikala što potiče brojnije stvaranje matriksnih metaloproteinaza i na poslijetku degradaciju izvanstaničnog matriksa. [7, 37]. Matriksne metaloproteinaze vrsta su peptidnih hidrolaza koje sadrže cink i izazivaju degradaciju proteina izvanstaničnog matriksa [26]. Za proces fotostarenja karakteristična je abnormalna akumulacija elastinske mase. Elastinska vlakna pod utjecajem UV zračenja prvo podliježu hiperplaziji i zadebljanju te se pretvaraju u razgranatu kompaktnu masu. Nejednaka stimulacija melanocita UV zračenjem manifestira se u obliku pjega i pigmentacija. Dolazi i do slabljenja vezivnog tkiva i promjena u mikrocirkulaciji. Gubitak kolagena u UV zračenjem izloženoj koži prvenstveno je rezultat stimulacije matriksnih metaloproteinaza koje razgrađuju kolagen [7], a oštećeni strukturalni i funkcionalni proteini izvanstaničnog matriksa koži daju stariji izgled [1]. Gore navedene promjene dovode do brojnih manifestacija ostarjele kože poput gubitka elastičnosti kože, suhoće i hiperkeratoze, nastanka bora, hiperpigmentacija, teleangiektazije i odgođenog zacjeljivanja rana [7, 37].

#### **1.4.6 Upala**

Rani biološki odgovori na UV zračenje, eritem kože, glavni je vidljivi znak upale [33]. Upala je biološki odgovor na štetni stimulans poput zračenja. Obrambeni je mehanizam kojim se na staničnoj i molekularnoj razini učinkovito minimiziraju ozlijede i infekcije te potiče obnova tkiva i homeostaza [38]. Medijatori upale oslobađaju se iz keratinocita, fibroblasta, tumorskih stanica, leukocita i endotela krvnih žila. U njih ubrajamo plazmatske medijatore (bradikinin, plazmin, fibrin), lipidne medijatore (prostaglandini, leukotrieni, čimbenik aktivacije trombocita) i upalne citokine (interleukine IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$ ) [25].

Kao rezultat UV zračenja nastali slobodni radikali aktiviraju NF- $\kappa$ B, a uz nastanak slobodnih radikala upala nastala kao odgovor na UV zračenje jedan je od glavnih mehanizama oštećenja kože. Proupalni i

redoks reguliran transkripcijski faktor NF- $\kappa$ B jedna je od primarnih molekula u koži koja sudjeluje u upalnom odgovoru na UV zračenje i koja regulira ekspresiju gena za kodiranje proteina esencijalnih za imunitet, upalu i preživljavanje stanice. Djelovanjem UV zračenja, NF- $\kappa$ B stimulira ekspresiju proupalnih citokina u keratinocitima i stanicama kože koji u svojoj strukturi sadrže mjesta za vezanje NF- $\kappa$ B [21, 39]. NF- $\kappa$ B naziv je za proteine koji dimeriziraju i formiraju transkripcijski aktivne dimere koji se neaktivni nalaze u citoplazmi uz inhibitorni protein I- $\kappa$ B. Aktivacija NF- $\kappa$ B vezana je uz oksidacijske modifikacije dijelova stanične membrane izazvanih UVA i UVB zračenjem. Signalni put NF- $\kappa$ B aktiviran je oksidacijskim stresom putem aktivacije citoplazmatske kinaze IKK. Aktivna IKK fosforilira i degradira I- $\kappa$ B, inhibitor transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B. Oslobođanje NF- $\kappa$ B iz kompleksa s inhibitorom I- $\kappa$ B rezultira translokacijom aktivnog NF- $\kappa$ B iz citoplazme u jezgru gdje aktivira upalne citokine i prostaglandine. Stoga, inhibicija NF- $\kappa$ B antioksidansima i inhibitorima proteasoma koji, sprječavanjem fosforilacije ili pretjerane ekspresije mutirane I- $\kappa$ B, ublažava oštećenje izazvano UV zračenjem [25, 40]. Antioksidansi djeluju inhibicijom signalizacije NF- $\kappa$ B pri čemu dolazi do suprimiranja ekspresije gena za proupalne citokine IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, iNOS i TNF- $\alpha$  koja je regulirana NF- $\kappa$ B [41].

#### **1.4.7 Narušena funkcija imunološkog sustava**

Koža je organ sa svojim vlastitim imunološkim sustavom koji štiti od patogena te identificira i eliminira oštećene stanice [25]. Imunološki sustav ključan je za fiziološku i imunološku funkciju organizma. Primarno se sastoji od leukocita i ostalih komponenata kao što su antitijela, proteini i citokini koji predstavljaju prvu liniju obrane organizma [42].

Imunitet možemo podijeliti na urođeni i stečeni. Urođeni imunitet prva je linija obrane od patogena, a sastoji se od epitelne zaštite, antimikrobnih proteina te humoralnih i staničnih komponenata. Stečeni imunitet aktiviran je urođenim imunitetom, koji doprinosi prepoznavanju stranih antigena, a ključni akteri stečene imunosti su B limfociti, T limfociti i regulatorne T stanice. Glavni izvor citokina u organizmu su T limfociti, a oni imaju specifične receptore za antigene koji im omogućuju prepoznavanje patogena. Na površini T limfocita nalazi se CD4 ili Th stanice koje dijelimo na Th1 i Th2 stanice, a one stvaraju Th1 i Th2 citokine. Th1 citokini proupalni su agensi i utječu na unutarstaničnu eliminaciju

patogena, a u njih ubrajamo TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2 i IL-18. U Th2 citokine ubrajamo citokine povezane s odgovorom na imunoglobulin kao što su IL-4, IL-5, IL-9 i IL-13, proupalni citokin IL-6 i protuupalni IL-10. Potreban je balans između Th1 i Th2 odgovora da bi se organizam učinkovito borio protiv patogena i da bi se izbjegla nekontrolirana upala. Imunološki sustav identificira i eliminira patogene, pri čemu nastaje upala, oštećenje stanica ili tkiva, smrt stanice te zacjeljivanje rana da bi se održao redoks balans i spriječili razni poremećaji [42].

Langerhansove stanice (dendritičke epidermalne stanice) [7] ključni su medijatori staničnog imunskog odgovora [25] te pokreću imunološke reakcije u koži. Uz keratinocite, T stanice, vaskularne endotelne stanice, makrofage, granulocite, mastocite i melanocite, Langerhansove stanice dio su limfnog sustava vezanog uz kožu čija je primarna funkcija nadzor nad imunitetom [7]. Izlaganjem UV zračenju Langerhansove stanice prolaze kroz brojne funkcionalne i morfološke promjene što može značajno smanjiti njihov broj i poremetiti mehanizme nadzora nad imunitetom [7, 14]. Osim što smanjuje broj Langerhansovih stanica, UV zračenje narušava i njihovu funkciju migracije i prezentacije antigena u limfnim čvorovima. Mehanizam uključen u ovaj proces je izomerizacija *trans*-urokanske kiseline u *cis* oblik što direktno utječe na migraciju i aktivnost Langerhansovih stanica. Dodatno, kao odgovor na *cis*-urokansku kiseline potiče se sekrecija imunosupresivnog citokina IL-10 koji se luči iz keratinocita. Smanjenje Langerhansovih stanica i proupalni mikrookoliš izazvan UV zračenjem izaziva priljev makrofaga koji aktiviraju regulatorne T stanice i polariziraju Th1/Th2 odgovor prema Th2 [25].

Supresija imunološkog sustava doprinosi nastanku UV zračenjem induciranih kožnih oboljenja kao što su rak kože melanomskog i nemelanomskog tipa [1]. Dolazi do stimulacije oslobađanja imunosupresivnih citokina poput IL-4 i poticanja apoptoze leukocita [21]. Kao odgovor na UVB zračenje u keratinocitima se potiče i ekspresiju COX-2 što dovodi do povećanja koncentracije metabolita prostaglandina u koži. COX-2 je enzim koji stvara metabolite prostaglandina iz arahidonske kiseline, stoga je njegova ekspresija vezana uz imunosupresiju i patofiziologiju upale i karcinoma [3]. Prostaglandin E2 potiče proliferaciju keratinocita aktivacijom receptora epidermalnog faktora rasta i stvaranja cikličkog AMP [25, 43].

Upala i oštećenje stanice aktiviraju upalne signalne putove poput NF- $\kappa$ B, MAPK te put JAK-STAT [42]. Imunosupresija nastala UV zračenjem je faktor rizika u nastanku tumora [14]. Antitumorska imunost centralni je sustav u obrani od kancerogeneze [34].

Put MAPK fiziološki je uključen u prijenos izvanstaničnih signala u jezgru, poput faktora rasta i hormona, što dovodi do ekspresije gena ključnih za proliferaciju stanice, diferencijaciju i preživljavanje [15]. UV zračenje pojačava signalni transdukcijski put MAPK [21] te njihova fosforilacija putem receptorskih tirozin kinaza, rezultira aktivacijom transkripcijskog faktora AP-1 čime se stimulira transkripcija gena za matriksne metaloproteinaze. Taj se proces bazira na aktivaciji proupalnih citokina (IL-6 i IL-1) pri čemu transkripcijski faktori c-FOS i c-JUN podliježu heterodimerizaciji i formiraju AP-1 [21, 26].

U signalnom putu MAPK sudjeluju ERK1/2, JNK i p38 mitogenom aktivirane protein kinaze. Putovi JNK i p38 imaju važnu ulogu u UV zračenjem izazvanoj stimulaciji AP-1 [25].

JNK su proteini izrazito osjetljivi na široki raspon staničnih stimulansa, poput upalnih citokina, faktora rasta, UV zračenja, bakterijskih i virusnih upala, toplinskog šoka, osmoze i genotoksičnog stresa. Signalni put JNK posreduje u velikom broju staničnih procesa poput proliferacije stanica, migracije, apoptoze i odgovora na stres. Aktiviraju ga JNKK koje su regulirane kinazama JNKKK, a aktivira se fosforilacijom treoninskih i tirozinskih ostataka. Nakon svoje aktivacije, JNK fosforilira ciljne proteine poput AP-1, ATF i Elk1. AP-1 funkcionira ili u obliku homodimera koji sadrže dva Jun proteina ili heterodimera koji sadrže proteine Jun i Fos, a ima bitnu ulogu u regulaciji staničnog ciklusa te u remodeliranju izvanstaničnog matriksa i angiogenezi [44].

AP1 stimulira transkripciju nekih matriksnih metaloproteinaza koje kolektivno degradiraju izvanstanični matriks, poput MMP-1, MMP-2 i MMP-3. [25] AP-1 inhibira i transkripciju gena za kolagen tipa I.

Stoga, oštećenje izvanstaničnog matriksa i integriteta tkiva nastaje radi pojačane degradacije matriksnim metaloproteinazama i radi smanjene ekspresije strukturalnih proteina izvanstaničnog matriksa. Aktivni oblici matriksnih metaloproteinaza inhibirani su tkivnim inhibitorima TIMP [25]. Osim što ubrzava

stvaranje kolagena, TGF- $\beta$  potiče stvaranje TIMP [44]. Stoga, remodeliranje kolagena i elastina koje potiče angiogenezu, metastaziranje i razgradnju tkiva rezultat je pojačanje ekspresije ili aktivacije matriksnih metaloproteinaza i smanjene ekspresije tkivnih inhibitora matriksnih metaloproteinaza [25]. Glavne matriksne metaloproteinaze koje sudjeluju u procesu fotostarenja su MMP-1, MMP-3 i MMP-10 [10].

JNK je zajednički medijator pro fibrotičkih signala i ekspresije pro fibrotičkih gena, uključujući signalne putove TGF- $\beta$ , PDGF i transduktora signala i STAT 3 [44].

## **1.5 Oksidacijski stres**

Izlaganje kože UV zračenju potiče stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva koji imaju ulogu u nastanku oksidacijskog stresa i mogu oštetiti DNA, stanične proteine i staničnu membranu stanica kože [20]. Oksidacijski stres ima glavnu ulogu u preranom starenju i oštećenju kože [1]. Izaziva promjene u redoks statusu stanice oštećujući njezine dijelove što dovodi do narušavanja homeostaze i oštećenja zahvaćenih tkiva i organa [45], a osim UV zračenja redoks homeostazu organizma mogu narušiti i ostali čimbenici stresa poput bolesti, liječenja, nedostatka sna te životnih navika kao što su pušenje i konzumacija alkohola. Osim vanjskih faktora (UV zračenje), oksidacijski stres mogu izazvati i slobodni radikali (reaktivni kisikovi spojevi) nastali fiziološkim metabolizmom [1]. Dugotrajno izlaganje čimbenicima stresa povećava broj nastalih slobodnih radikala što dovodi do smanjenja koncentracije antioksidansa do kritičnih vrijednosti i nastanka oksidacijskog stresa [45].

Mitohondriji su centar proizvodnje stanične energije, regulator redoks balansa i glavni izvor slobodnih radikala [46]. Stoga, mitohondriji imaju važnu ulogu u oksidacijskim oštećenjima i disfunkciji tkiva, ali štite i od prekomjernih tkivnih poremećaja [45]. Pojačan oksidacijski stres može oštetiti mitohondrije, a nastala disfunkcija mitohondrija potiče stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva koji oštećuju stanicu [46]. Međutim, stvaranje slobodnih radikala nije limitirano samo na mitohondrije. Njihov nastanak može biti potaknut enzimskim i kemijskim reakcijama i u drugim staničnim organelima poput lizosoma, endoplazmatskog retikuluma i citoplazme [45].



Nekoliko je mehanizama kojima se koža prirodno štiti od nepovoljnih čimbenika iz okoliša. Od sunčevog zračenja prvenstveno se štiti prisustvom prirodnih antioksidacijskih sustava koji sprječavaju potencijalnu štetu u stanicama neutralizirajući nastale slobodne radikale. Antioksidansi prisutni u koži, pri izloženosti suncu prvi pružaju koži zaštitu od štetnih utjecaja zračenja. Stoga je koncentracija antioksidansa vrlo važna za zaštitu kože [12].

### **1.5.1 Antioksidansi**

Antioksidansi su molekule koje pokazuju sposobnost odstranjivanja slobodnih radikala iz organizma ulazeći s njima u reakciju i pritom stvarajući druge neškodljive spojeve ili ometajući reakciju oksidacije [47]. Antioksidanse u ljudskom organizmu možemo podijeliti na endogene i egzogene [46], a ti zaštitni mehanizmi hvataju ili detoksiciraju slobodne radikale i oksidanse [48]. U normalnim fiziološkim uvjetima, slobodne radikale uništava endogeni stanični antioksidacijski sustav obrane kojeg čine enzimi superoksid dismutaza, katalaza i glutacion peroksidaza [46] te glutacion-S-transferaza, glutacion reduktaza, sintetaza dušikovog oksida, lipooksigenaza, mijeloperoksidaza i ksantin oksidaza. Antioksidacijski enzim superoksid dismutaza katalizira dismutaciju  $O_2\cdot$  u  $O_2$  i  $H_2O_2$ , a katalaza pretvara  $H_2O_2$  u  $O_2$  i  $H_2O$  [48].

Patološki uvjeti izazivaju pretjerano stvaranje slobodnih radikala pri čemu dolazi do njihove akumulacije te oštećenja mitohondrija i stanica [46], a enzimatski antioksidansi često nisu dovoljna zaštita od oksidacijskog stresa [47]. Koža u svojim slojevima također ima specifične ne-enzimatske antioksidacijske sustave pomoću kojih održava ravnotežu između slobodnih radikala i antioksidansa te time prevenira oksidacijski stres [49]. U endogene ne-enzimatske antioksidacijske sustave ubrajamo glutacion, lipoičnu kiselinu, mokraćnu kiselinu, koenzim Q10, vitamin D, unutarstanične reducirajuće agense NAD i NADP [45]. Takav se sustav može poremetiti povećanim izlaganjem vanjskim (UV zračenje) ili unutarnjim (upala) izvorima slobodnih radikala [20, 49].

Glutacion je glavni, ne-enzimatski regulator redoks balansa, a njegova homeostaza regulirana je njegovom ponovnom sintezom te drugim faktorima poput iskorištavanja i recikliranja. Iako glutacion može direktno reagirati s reaktivnim kisikovim i dušikovim spojevima, može biti i supstrat za glutacion peroksidazu i glutacion-S-transferazu te ima ulogu u detoksikaciji  $H_2O_2$ , lipidnih hidroperoksida i

elektrofilnih sastavnica [48]. Glutation peroksidaza i glutacion reduktaza reduciraju  $H_2O_2$  i lipidne hidroperokside korištenjem glutaciona [50]. Aktivnost tih enzima može smanjiti staničnu koncentraciju glutaciona i povećati unutarstaničnu koncentraciju oksidiranog glutaciona, a to se može spriječiti ponovnom sintezom glutaciona i izvozom oksidiranog glutaciona u izvanstaničnu medij. Djelovanjem enzima glutacion reduktaze uz flavin adenin dinukleotid i NADP, glutacion se reciklira [48].

Egzogene antioksidanse u organizam unosimo prehranom, a u njih ubrajamo primjerice karotenoide, vitamine A, C i E, polifenole, cink i selen. Neke kombinacije poput karotenoida i vitamina E, karotenoida i polifenola, superoksid dismutaze i katalaze, likopena,  $\beta$ -karotena i vitamina C i E djeluju sinergistički, značajno povećavaju broj neutraliziranih slobodnih radikala i pojačavaju učinkovitost antioksidacijske zaštite. Time se minimiziraju potencijalni negativni učinci slobodnih radikala na tkiva i organe [45].

### **1.5.2 Slobodni radikali**

Slobodni radikali i neradikalni reaktivni spojevi izazivaju oksidacijsko oštećenje. Molekule pretjerano oksidirane slobodnim radikalima reagiraju s proteinima, lipidima i DNA kroz lančanu reakciju te izazivaju oksidaciju lipida, proteina i oštećenje DNA [51]. Konstantni napad na organizam slobodnim radikalima nazivamo oksidacijski stres [47]. Većina slobodnih radikala sadrži kisik, stoga ih nazivamo reaktivnim kisikovim spojevima [45]. Reaktivni kisikovi spojevi mogu biti slobodni radikali i drugi neradikalni reaktivni spojevi. U slobodne radikale ubrajamo  $O_2\cdot$ ,  $OH\cdot$ ,  $RO\cdot$  i  $ROO\cdot$ , a neradikalni kisikovi spojevi su  $H_2O_2$ ,  $HOCl$ ,  $HOBr$ ,  $O_3$ ,  $^1O_2$ ,  $ROOH$  i  $HCOR$  [20]. Osim izloženosti UV zračenju, slobodni radikali nastaju i normalnim staničnim metabolizmom, a i metabolizmom toksina, lijekova citokromom p450 te monooksigenazama [48]. Slobodni radikal  $H_2O_2$  može nastati i aktivacijom NADPH koji je katalizator u reakciji između  $O_2$  i  $O_2\cdot$  0. Osim reaktivnih kisikovih spojeva, stvaraju se i reaktivni dušikovi spojevi i lipidni oksidirani spojevi koji također izazivaju kaskadnu reakciju peroksidacije lipida, upalu i oštećenje DNA [45]. Radi neparnog broja elektrona, slobodni radikali opstaju kratko, nestabilni su i izrazito reaktivni. Postaju stabilni uzimajući elektrone od drugih sastavnica pri čemu napadnuta sastavnica gubi elektron i postaje slobodni radikal. Pretjerano stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva remeti endogene sustave obrane organizma te dolazi do oštećenja DNA i peroksidacije lipida

[20]. Stvaranje slobodnih radikala i oksidansa fiziološki je normalno jer doprinose signalnim funkcijama između stanica i služe eliminaciji patogena poput virusa i bakterija. Slobodni radikali, osim oksidacijske štete služe kao prirodna obrana od patogena i kao molekularni signali koji aktiviraju odgovor na stres i djeluju povoljno na organizam. U fiziološkim uvjetima koncentracija slobodnih radikala u koži veća je od lipidnih radikala, a ne prelazi  $3,5 \times 10^{12}$  radikala/mg [45].

## **1.6 Zaštita kože od sunčevog zračenja**

Zaštitni procesi u koži mogu djelovati i odgođeno, a to možemo opisati s dva procesa čiji odgođeni učinak ne pruža trenutni odgovor na sunčevo zračenje. Prvi proces se odnosi na specifične stanice, melanocyte, koji proizvode i odlažu melanin u koži kao rezultat izlaganja suncu, pri čemu koža tamni. Tamnjenje kože pruža zaštitu koži djelovanjem melanina koji apsorbira i filtrira širok spektar valnih duljina sunčevog zračenja. U drugom procesu stanice u donjem sloju *epidermisa* kao odgovor na zračenje prolaze kroz pojačanu mitotičku aktivnost. Dolazi do hiperplazije stanica i do zadebljanja *epidermisa*, a time se povećava i put koji sunčevo zračenje mora proći da bi došlo u dublje slojeve kože. Taj proces učinkovito smanjuje potencijalnu štetu koju sunčevo zračenje može nanijeti koži [12].

Fotozaštita je jedna od najvažnijih preventivnih mjera zaštite zdravlja, a može biti farmakološka i mehanička. Zaštita kože i smanjen negativan utjecaj sunčevog zračenja može se postići sustavnom i topikalnom zaštitom uz izbjegavanje direktnog izlaganja suncu sklanjajući se u hlad, noseći zaštitnu odjeću i zaštitne odjevne dodatke [2, 3, 4]. Šeširi sa širokim obodom štite tjeme ali i kožu čela, oči, obraze i nos, a sunčane naočale sa svojstvima filtriranja UV zračenja štite oči i okolnu kožu te sprječavanju stvaranje komplikacija vida [7].

### **1.6.1 Zaštitna odjeća**

Fotozaštitna odjeća rangirana je zaštitnim faktorom od UV zračenja UPF, mjerom količine UV zračenja koja prodire kroz tkaninu. Veći UPF faktor označava nepropusniju odjeću. UPF faktor se povećava u prisustvu usko pletenih i debljih tkanina, sintetičkih materijala, materijala tamne boje i materijala opranih s UV apsorberajućim spojem širokog raspona apsorpcije valnih duljina (npr. Tinosorb). Primjerice, faktor UPF 40 označava adekvatnu odjeću na svim geografskim lokacijama [21]. Suhi tekstil

pruža bolju zaštitu od vlažnog jer se močenjem u nekim tkaninama mijenjaju strukture vlakana povećavajući praznine među njima, pri čemu se povećava i prostor kroz koji zračenje može prodrijeti [7].

### 1.6.2 Topikalna zaštita od sunčevog zračenja

Topikalna zaštita prva je linija zaštite od sunca, a postiže se nanošenjem dostatnog sloja pripravka koji može apsorbirati ili raspršiti zračenje [2]. Preporučuje se koristiti topikalne pripravke širokog spektra zaštite sa zaštitnim faktorom SPF 30+. Zaštitni faktor SPF mjera je zaštite od UVB zračenja tj. UV zračenjem izazvanog eritema kože. Što je zaštitni faktor viši, zaštitno je djelovanje pripravka od UVB zraka veće [17, 21]. SPF je omjer količine zračenja koja izaziva eritem kada se koristi zaštitni filter i količine zračenja koja izaziva isti eritem bez zaštite kože filterom (MED), stoga obilježava količinu UV zračenja potrebnu za izazivanje nastanka eritema nakon korištenja topikalnog pripravka u odnosu na nezaštićenu kožu [7].

Učinkovitost fotozaštite određuje i PA, razred zaštite od UVA zračenja. UVA zračenje prodire dublje u ljudsku kožu te dostiže *dermis* i spoj *dermisa* i *epidermisa* gdje se nalazi većina melanocita. Sredstva za topikalnu zaštitu kože mogu imati oznake PA+ do PA++++ što se odnosi na razinu zaštite od UVA zračenja. Razred PA dobiva se testom trajnog tamnjenja pigmenta (PPD) na koži tretiranoj određenim fotozaštitnim proizvodom. Sredstva za zaštitu od sunca označena s PA+ pokazuju nisku zaštitu od UVA zračenja, dok PA++++ pokazuju visoku zaštitu [6].

Najpopularniji način zaštite kože od prodiranja UV zraka je topikalna primjena fotozaštitnih sredstava koji sadrže UV reflektirajuće i/ili apsorbirajuće spojeve [2, 21]. Pripravci koji se koriste kao topikalna zaštita mogu biti fizikalni i kemijski. Fizikalni filteri mineralnog su podrijetla te oni odbijaju i raspršuju zračenje, a kemijski filteri koje čine molekule aromatske strukture apsorbiraju zračenje [7]. Taj način zaštite je učinkovit, ali neadekvatan u sprječavanju svih rizika koje sunčevo zračenje može izazvati u organizmu. Topikalno primijenjeni pripravci limitirani su zbog nepotpune zaštite od zračenja cijelog sunčevog spektra i toksičnosti UV filtera [22]. Učinak sredstava za topikalnu zaštitu od sunčevih zraka također je limitiran i zbog njihove neadekvatne primjene. Takvi se pripravci moraju na kožu nanositi u dostatnom sloju ( $2 \text{ mg/cm}^2$ ) te se dovoljno često obnavljati zbog svoje brze inaktivacije na koži [2, 21].

Nanositi se moraju 15 – 30 minuta prije izlaganja suncu i ponovo nanositi svaka dva do tri sata, a posebice nakon plivanja ili znojenja. Sastojci proizvoda za topikalnu primjenu mogu biti organski kemijski spojevi koji apsorbiraju specifične fotone zračenja i anorganski, koji reflektiraju i raspršuju zračenje [8].

### **1.6.3 Sustavna zaštita od sunčevog zračenja**

Sustavna fotozaštita najčešće se primjenjuje oralnim putem, ali takvi pripravci kožu ne štite od direktnog oštećenja poput crvenila i opekotina koje izazivaju fotoni visoke energije, stoga se preporučuje kombinacija s topikalnim pripravcima na koži [2]. Sustavna fotozaštita prva je linija u prevenciji raka kože, uključujući karcinome melanomskog i nemelanomskog tipa [52].

## **2 Cilj istraživanja**

Osnovni cilj ovog istraživanja je kritički se osvrnuti na mogućnosti postizanja fotozaštite kože sistemskom (per os) primjenom bioaktivnih sastavnica biljaka i hrane. Provedbom sveobuhvatnog pregleda recentnih znanstvenih i stručnih radova vezanih uz temu utvrdit će se učinkovitost, sigurnost i ograničenja peroralne primjene različitih sastavnica u ostvarivanju fotozaštite kože. Istraživanje će se dodatno usredotočiti na pojašnjenja mehanizama fotozaštite i važnost režima doziranja za postizanje klinički značajnih učinaka. S obzirom na velik broj novijih istraživanja u tom području i nedostatak službenih smjernica, rezultati ovog rada značajno će doprinijeti kvaliteti provođenja ljekarničke skrbi u segmentu savjetovanja pacijenata o fotozaštiti kože.

### 3 Materijali i metode – sustavni pregled saznanja o temi

Za potrebe pisanja specijalističkog rada korišteni su originalni znanstveni radovi, meta-analize te ostala stručna i znanstvena literatura na engleskome jeziku. Podaci su dobiveni pretraživanjem bibliografskih baza podataka ScienceDirect i PubMed korištenjem kombinacija ključnih riječi: skin; photoprotection; carotenoid;  $\beta$ -carotene; lycopene; astaxanthin; lutein; zeaxanthin; polyphenol; pycnogenol; cocoa; grape seed; silymarine; *Polipodium leucotomos*; pomegranate; green tea; omega fatty acids; vitamin; mineral; coenzyme Q10; probiotic. Prilikom pretraživanja uključeni su filteri koji su se odnosili na tip članka. Pregledane su sve publikacije koje su se pojavile kao rezultat pretrage, a odabir je ograničen na izvorne radove koji su se pojavili na engleskom jeziku s obrađenim mehanizmima djelovanja biljnih sastavnica na kožu, njihovim doziranjem i djelovanjem. Za dodatna saznanja, pregledane su i relevantne literaturne reference navedene u publikacijama.

Relevantni članci proučavani su analitično i kritično te su izdvojeni najvažniji rezultati, rasprave i zaključci koji su prikazani ovim specijalističkim radom.

#### 3.1 Sistemska fotozaštita

Endogena fotozaštita kože može se ojačati *per os* primjenom sastavnica za fotozaštitnim svojstvima [8] koje mogu inhibirati, obrnuti ili usporiti štetne učinke UV zračenja na kožu [3]. Takve sastavnice moraju učinkovito apsorbirati UV zračenje u širokom spektru valnih duljina da bi ojačale kožnu barijeru u zaštiti od UV zračenja ili ostvarivati druge učinke koji doprinose endogenoj fotozaštiti [8].

##### 3.1.1 Karotenoidi

Karotenoidi su fitonutrijenti topljivi u mastima koji na puno načina doprinose zdravlju ljudi, a u prirodi ih uglavnom nalazimo u voću i povrću. U karotenoide ubrajamo preko 750 pigmenata koje sintetiziraju biljke, gljive, bakterije i alge, a manje od 20 ih je pronađeno u ljudskom tijelu. Ljudi ove pigmente ne mogu sintetizirati, stoga ih je potrebno unositi u organizam prehranom ili suplementacijom [12, 53].

Karotenoidi su tetraterpeni koji se strukturno mogu karakterizirati u dvije skupine. Karotene ( $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten i likopen) ubrajamo u nepolarne karotenoide, a sadrže samo ugljikovodični lanac bez funkcionalnih skupina. Ksantofili (lutein, zeaksantin,  $\beta$ -kriptoksantin, astaksantin i krocin) su polarne

molekule s barem jednim kisikovim atomom uklopljenim u hidroksilnu ili keto skupinu. Karotenoidi koji se u najvećoj količini nalaze u ljudskom tijelu su  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten i likopen te lutein, zeaksantin,  $\alpha$ - i  $\beta$ -kriptoksantin i astaksantin. U najvećim koncentracijama nalazimo ih u *stratum corneum*u najbliže površini kože, ali oni se nepravilno distribuiraju kroz sve slojeve kože [11, 23, 41, 47, 51].

Strukturno, karotenoidi su spojevi s 40 ugljikovih atoma koji sadrže dvije terminalne cikličke ili acikličke skupine povezane ugljičnim lancem s konjugiranim dvostrukim vezama [8, 47, 54]. Konjugirane dvostruke veze služe kao kromofor koji apsorbira UV zračenje [18]. Duljina polienskog lanca, prisustvo funkcionalnih skupina, njihovo pozicioniranje ( $\alpha$  i  $\beta$ ), glikozilacija hidroksilne skupine, esterifikacija masnim kiselinama, aciklička i ciklička struktura i konfiguracija utječu na antioksidacijske i biološke učinke karotenoida. Monociklička struktura karotenoida povoljnija je za gašenje  $^1\text{O}_2$  nego aciklička, a karotenoidi s keto funkcionalnom skupinom imaju jači antioksidacijski potencijal nego hidroksi derivati zbog produženog konjugiranog sustava dvostrukih veza [55]. Ksantofili su strukturalno slični karotenima, ali u odnosu na njih u svojoj strukturi imaju slobodne hidroksilne skupine na svakom kraju molekule koje im omogućuju specifična biokemijska svojstva [12].

### **3.1.1.1 Provitamin A aktivnost karotenoida**

Spojevi s aktivnošću provitamina A su prekursori u metaboličkoj sintezi esencijalnog vitamina A (retinola) i njegovih derivata [23, 41, 47, 53, 54]. Karotenoidi koji imaju funkciju provitamina A su  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoten te  $\beta$ -kriptoksantin dok astaksantin, iako puno potentniji od ostalih karotenoida, u ljudskom organizmu nema aktivnost provitamina A. Aktivnost provitamina A nema niti likopen radi svoje acikličke strukture i nedostatka  $\beta$ -jononskog prstena [53]. Prevladavajući oblici vitamina A su retinol (vitamin A1) i dehidroretinol (vitamin A2) koji se u koži mogu metabolizirati u retinal, a potom u retinoičnu kiselinu [45]. Enzimom BCMO1 karotenoidi se oksidacijski cijepaju u dvije molekule *trans*-retinala koje se zatim mogu reverzibilno reducirati retinal reduktazom u retinol ili ireverzibilno oksidirati u retinoičnu kiselinu retinal dehidrogenazom [56, 57]. Retinoična kiselina svojim keratolitičkim i protuupalnim djelovanjem ima širok terapijski spektar na akne i upalne bolesti kože, a pokazuje i antioksidacijska svojstva [45].



Drugi enzim, BCDO2, cijepa  $\beta$ -karoten na 9',10' dvostrukoj vezi, pri čemu nastaju  $\beta$ -apo-10'-karotenal i  $\beta$ -jonon. Monoooksigenaza BCMO1 prenosi jedan atom kisika iz  $O_2$ , a drugi atom kisika iz vode preko epoksidnog posrednika, a suprotno tome dioksigenaza BCDO2 inkorporira oba kisikova atoma iz molekularnog kisika preko dioksetanskog posrednika. Oba enzima zahtijevaju ion željeza  $Fe^{2+}$  kao esencijalni kofaktor koji se veže na četiri histidinska ostatka u aktivnom centru.

BCMO1 je ključni enzim u metabolizmu  $\beta$ -karotena i nalazi se u citosolu, dok je BCDO2 smješten u mitohondriju. BCMO1 se nalazi i u keratinocitima skvamoznog epitela kože mukoznim i glandularnim stanicama želuca, tankom i debelom crijevu, hepatocitima, stanicama endokrinih žlijezda gušterače, glandularnim stanicama prostate, endometrija i stanicama bubrega, stanicama skeletnih mišića, stanicama testisa i jajnika te u retinalnom pigmentnom epitelu i cilijarnom epitelu oka dok se BCDO2 također nalazi u većini nabrojanih tkiva, ali u nižim koncentracijama od BCMO1. Ekspresija BCMO1 u tkivima koja se nalaze izvan crijeva povezana je s mogućnošću tih tkiva da direktno pretvaraju lokalno skladištene karotenoide u vitamin A.

BCDO2 ima važnu ulogu u zaštiti od karotenoidima inducirane mitohondrijske disfunkcije, a time i od oksidacijskog stresa. Aktivnost enzima BCMO1 je prvenstveno limitirana na  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -apo-karotenele i  $\beta$ -kriptoksantin jer zahtjeva barem jedan nesupstituirani  $\beta$ -jononski prsten te prisustvo metilnih skupina na polienskom lancu. BCDO2 pokazuje širu specifičnost za supstrat te djeluje na  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, likopen, zeaksantin i lutein [57].

### **3.1.1.2 Farmakokinetika karotenoida**

Na otpuštanje nutrijenata iz matriksa hrane utječu parametri poput apsorpcije u gastrointestinalnom traktu te distribucija, metabolizam i izlučivanje. Na oslobađanje nutrijenta iz matriksa hrane utječu interakcije sa sastavnicama matriksa, struktura matriksa, prisustvo ili izostanak enzima koji utječu na oslobađanje nutrijenata, učinak ostale hrane unešene u probavni trakt, oblik u kojem su nutritivne komponente pohranjene u matriksu te substancična lokacija u matriksu namirnice [19].

Nakon oslobađanja iz matriksa namirnice u tankom crijevu, karotenoidi se ugrađuju u micide sastavljene od fosfolipida, lipida, kolesterola i žučnih soli. Micide difuzijom prelaze apikalnu membranu enterocita,

ugrađuju se u hilomikrone i ulaze u sastav limfe, a potom u krvotok uklopljeni u lipoproteine HDL i LDL [1, 23]. Difuzija karotenoida može se odvijati difuzijskim prijenosom ovisnim o koncentracijskom gradijentu i olakšanom difuzijom pomoću membranskih prijenosnika kolesterola kao što su SR-B1 te CD36 [18]. Karotenoidi se najčešće slabo apsorbiraju, a apsorpcija im ovisi o drugim hranjivim komponentama prisutnim u obroku te može iznositi 5 – 50% [58]. Karotenoidi uneseni hranom slijede putove apsorpcije lipida. Lipidi uneseni u organizam zajedno s karotenoidima pospješuju njihovu apsorpciju [19].

U krvi se karotenoidi nalaze u hilomikronima (postprandijalno) i frakcijama lipoproteina VLDL te se postepeno njihova koncentracija povećava u obliku lipoproteina HDL i LDL, pri čemu je LDL glavni prijenosnik karotena dok se ksantofili podjednako raspodjeljuju u oba lipoproteina. Krvotokom, karotenoidi se prenose u sva tkiva uključujući i kožu [19].

U koži se najveća koncentracija karotenoida nalazi unutar adipocita u supkutanom masnom tkivu i u *stratum corneumu* unutar lipidnih lamela [45]. Supkutano tkivo skladište je karotenoida i odgovorno je za obojenost kože nakon dugotrajnog uzimanja nekih karotenoida poput  $\beta$ -karotena i likopena [19]. Koncentracija karotenoida u koži ovisi o području na tijelu, a najviše ih nalazimo na dlanovima, čelu i u dorzalnom dijelu kože [18]. Osim u koži, karotenoide nalazimo i u krvotoku i jetri [45].

Karotenoidi u kožu mogu dospjeti na dva načina:

Iz adipoznog tkiva, krvi i limfe prenose se u stanice kože. U supkutanom masnom tkivu karotenoidi se skladište i mogu se prenijeti u keratinocite bazalne membrane *epidermisa*. Kako keratinociti prelaze u korneocite i migriraju na površinu *epidermisa* sa sobom donose i karotenoide u *stratum corneum*. Taj proces objašnjava potreban vremenski period za suplementaciju da bi se dobio fotozaštitni učinak [23].

Drugi način prijenosa je iz krvotoka, *hipodermisa* i *dermisa* u *epidermis* kroz sekreciju žlijezda znojnica na površinu kože, odakle karotenoidi prodiru natrag u *stratum corneum*. Taj mehanizam mogu objasniti visoke koncentracije karotenoida oko žlijezda znojnica [23].

Prisustvo lipida u probavnom traktu značajno povećava oralnu bioraspoloživost karotenoida zbog njihove topljivosti u lipidima. Zbog svoje slabe topljivosti u vodi i kemijske nestabilnosti mogućnosti

inkorporacije karotenoida u hranu/formulacije dodataka prehrani kao i apsorpcija natašte su limitirani. Stoga se karotenoidi često uklapaju u lipidne formulacije (nanoliposome, nanoemulzije, čvrste lipide i nanostrukturirane lipide), anorganske nanočestice (nanočestice zlata, kvantne točke i ugljikove nanocjevčice) i polimerne nanočestice. Time se povećava njihova topljivost u vodi, kapacitet skladištenja, postepeno i kontrolirano oslobađanje, bioraspoloživost i posljedično bioaktivnost [55].

Na raspoloživost karotenoida u organizmu mogu također utjecati čimbenici poput spola, godina starosti i bolesti [19].

### **3.1.1.3 Mehanizam djelovanja**

Karotenoidi, u službi fotozaštite kože mogu djelovati jačanjem barijerne funkcije kože u zaštiti od UV zračenja (UV apsorbirajuće molekule kao zaštita od fotooksidacije), zaštitom ciljanih molekula hvatajući zračenjem nastale slobodne radikale (antioksidacijski učinak), supresijom staničnih upalnih odgovora i popravljajući UV zračenjem izazvano oštećenje DNA [23].

#### **3.1.1.3.1 Jačanje barijerne funkcije kože**

Zbog svoje hidrofobne strukture karotenoidi se inkorporiraju u stanične membrane i sprječavaju oksidaciju lipida [23]. Smanjuju osjetljivost kože na eritem izazvan UV zračenjem [18].

#### **3.1.1.3.2 Antioksidacijski učinak**

Karotenoidi kao antioksidansi pojačavaju sposobnost endogenog antioksidacijskog sustava da neutralizira slobodne radikale poput lipidnih peroksida, superoksid aniona i hidroksil radikala koji se formiraju u koži nakon izlaganja UV i vidljivom zračenju [23]. Karotenoidi također sprječavaju inaktivaciju antioksidacijskih enzima i oštećenje DNA [52]. Molekularni markeri koji su inducirani izlaganjem UV zračenju i oksidacijskom stresu kao što su CPD, COX-2, ciklin D1 te marker proliferacije antigen Ki-67 efektivno se suprimiraju karotenoidima [23].

Izlaganje UV zračenju smanjuje razine  $\beta$ -karotena i likopena u koži, ali degradacija likopena puno je brža. To smanjenje pripisuje se slobodnim radikalima koji crpe tjelesne rezerve karotenoida [23]. Prisustvo konjugiranih dvostrukih veza omogućuje karotenoidima primanje elektrona od reaktivnih spojeva, a potom i njihovu neutralizaciju [59].

Većina štetnih učinaka UV zračenja posredovana je oksidacijskim stresom koji mijenja signalne putove poput NF- $\kappa$ B, MAPK, JAK, signalne transdukcije i aktivacije transkripcije Nrf2, pri čemu dolazi do oštećenja biomolekula i do narušavanja integriteta stanica kože [18].

#### **3.1.1.3.2.1 Prooksidacijski učinak karotenoida**

Antioksidacijski učinak karotenoida može se mijenjati u prooksidacijski ovisno o koncentraciji karotenoida, u uvjetima visoke zasićenosti kisikom ili u interakciji s ostalim sastavnicama. Stoga se karotenoidi mogu podijeliti na one sa značajnom antioksidacijskom aktivnosti, one s dobrom antioksidacijskom, ali i prooksidacijskom aktivnosti ( $\beta$ -karoten u visokim dozama i likopen pri visokim staničnim koncentracijama) te one jake antioksidanse koji nemaju prooksidacijsku aktivnost (astaksantin) [41, 60].

Nezasićeni polienski lanac u strukturi karotenoida podložan je oksidaciji, hidrolizi, izomerizaciji i degradaciji djelovanjem topline, svjetla, kisika, katalizatora i ostalih čimbenika. Karotenoidi su skloniji termalnoj degradaciji od ksantofila. Oksidacijom elektronima bogatih karotenoida nastalih djelovanjem slobodnih radikala ili drugih oksidirajućih agenasa nastaju peroksidi karotenoida koji mogu pokazivati biološke učinke. Stoga se, se gašenjem slobodnih radikala karotenoidima mogu formirati radikalni adukti. Prijenosom elektrona između peroksi-radikala i karotenoida nastaju anion i kation radikali karotenoida, a prijenosom vodikovog atoma nastaje neutralni rezonantno stabilan radikal karotenoida. Radikali karotenoida se mogu stabilizirati uz pomoć ostalih staničnih antioksidansa poput vitamina C, E i glutaciona [55].

#### **3.1.1.3.3 Supresija staničnog upalnog odgovora**

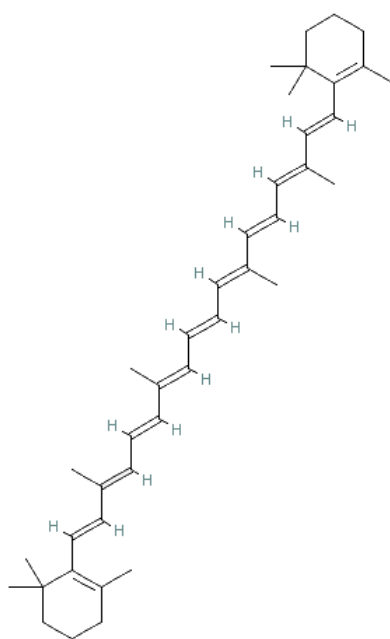
Karotenoidi utječu na razine biomarkera i proupalnih medijatora u krvi, kao što su oksidirani fosfolipidi, CRP, stimulatori upale prostaglandin E2, signalni put NF- $\kappa$ B, cirkulirajući proupalni citokini interleukini IL-8, IL-6, IL-1 i TNF- $\alpha$  [54, 55]. Istraživanja pokazuju osjetno smanjenu koncentraciju CRP u plazmi kod ljudi koji suplementiraju karotenoide, prvenstveno astaksantin, lutein i zeaksantin [54].

Zbog svojih antioksidacijskih svojstava karotenoidi mogu regulirati razine tih upalnih medijatora modulacijom oksidacijskog stresa ili ekspresijom antioksidacijskih i citozaštitnih enzima faze II pomoću transkripcijskog faktora Nrf2 i PPAR čiji su agonisti karotenoidi [55]. Stimulacijom aktivnosti Nrf2 dolazi do sprječavanja aktivacije signalnog puta NF $\kappa$ B [54]. Nrf2 je transkripcijski faktor koji ima bitnu ulogu u održavanju redoks statusa i učinka na upalu. Ulazi u interakciju s ciljnim genima na mjestu vezanja u molekuli DNA koje nazivamo ARE. Na aktivnost Nrf2 utječu protein Keap-1, epigenetski elementi DNA, PI3K/Akt put i drugi transkripcijski faktori. Pod utjecajem slobodnih radikala, Nrf2 se odvaja od kompleksa s Keap-1 i translocira se s citoskeleta u citosol (u jezgru) gdje se veže za specifične elemente ARE, potiče ekspresiju gena i tako održava redoks status i upalu [41]. PPAR je skupina nuklearnih hormonskih receptora, a bitnu ulogu iskazuje u metabolizmu lipida i homeostazi glukoze. Genski odgovori regulirani s PPAR $\alpha/\gamma$  imaju učinak na medijatore povezane s upalom i fotostarenjem kao što su citokini, matriksne metaloproteinaze te AP-1 u signalnom putu NF- $\kappa$ B [61].

Oralno primijenjeni, karotenoidi koži pružaju zaštitu od UVA i UVB zračenja. Štite kožu od crvenila i direktnog oštećenja DNA, pigmentacije kože i oksidacijskog stresa, a to pokazuje smanjenje ekspresije markera oksidacijskog stresa poput ICAM-1 koja ima važnu ulogu u upalama u koži, enzima HO-1 koja ima bitnu ulogu u razgradnji kolagena, interleukina i enzima uključenih u razgradnju kolagena matriksnih metaloproteinaza. Za postizanje sustavne fotozaštite potrebna je suplementacija karotenoida od barem 8 - 10 tjedana [23, 62].

### **3.1.2 $\beta$ -karoten**

$\beta$ -karoten je crveno-narančasti pigment [31] i dominantni karotenoid u mrkvi, batatu, paprici, bundevi i zelenom lisnatom povrću [55]. Sadrži dugi polienski lanac konjugiranih dvostrukih veza [42], a njegova struktura prikazana je na slici 1. Od svih provitamina A,  $\beta$ -karoten je najučestaliji u prehrani i pokazuje najveću efikasnost konverzije u vitamin A, neovisno radi li se o prirodnom ili kemijski sintetiziranom obliku [56].



Slika 1 Strukturna formula  $\beta$ -karotena [63]

Karotenoidi su zbog brojnih dvostrukih veza u svojoj strukturi izrazito osjetljivi na svjetlost i kisik. Neki antioksidansi poput vitamina C i E te koenzima Q<sub>10</sub> inhibiraju degradaciju  $\beta$ -karotena u vodenom mediju.

Nakon ugradnje u micelle s masnoćama iz hrane i žučnim solima, lipofilni  $\beta$ -karoten prelazi iz crijevnih epitelnih stanica u plazmu pasivnom difuzijom [56, 65], a djelomično i putem SR-B1 receptora [64]. U plazmi se veže za albumine te se kroz organizam raspoređuje u hilomikrone te se limfom prenosi u jetru i formira lipoproteine koji se otpuštaju u krvotok [56, 65]. Dio apsorbiranog  $\beta$ -karotena (35-88%) oksidacijski se cijepa enzimom BCMO1 u dvije molekule *trans*-retinala koji se zatim može reverzibilno reducirati retinal reduktazom u retinol ili ireverzibilno oksidirati u retinoičnu kiselinu retinal dehidrogenazom. Retinol se zatim esterificira s palmitinskom kiselinom i ulazi u hilomikrone kao retinil palmitat [56, 57].

$\beta$ -karoten iz prirodnih izvora pokazuje nisku bioraspoloživost zbog otpornih kompleksa karoten-protein i teške probavljivosti i degradacije stanične stijenke. Termička obrada povećava bioraspoloživost i apsorpciju  $\beta$ -karotena [59]. Termostabilan je, čak i nakon kuhanja i sterilizacije [53].

### 3.1.2.1 Mehanizam djelovanja

$\beta$ -karoten pokazuje antioksidacijski, protuupalni i antitumorski učinak koji su dokazani nizom *in vitro* studija.

UVA zračenjem inducirano starenje kože povezujemo sa signalnim putovima vezanim uz nastanak slobodnih radikala, a  $\beta$ -karoten u visokoj mjeri pojačava svojstva organizma na mogućnost njihovog gašenja, prvenstveno  $^1\text{O}_2$ . Izaziva prekid staničnog ciklusa i apoptozu stanica oštećenih UV zračenjem te inhibira UVA zračenjem induciranu degradaciju izvanstaničnog matriksa [66]. Suprimira ekspresiju MMP-1, MMP-3 i MMP-10 koje imaju važnu ulogu u fotostarenju [67].  $\beta$ -karoten može suprimirati ekspresiju gena za enzim HO-1 pri izloženosti UV zračenju. Ekspresija gena za HO-1 prvenstveno se potiče djelovanjem  $^1\text{O}_2$ , a HO-1 se u organizmu stvara i utjecajem supstrata hema te drugih induktora poput teških metala, endotoksina, toplinskog šoka, upalnih citokina i prostaglandina. Većina tih agenasa izaziva oksidacijski stres [68]. U stanicama,  $\beta$ -karoten ulazi u interakciju s UVA zračenjem i pokazuje zaštitna svojstva od fotostarenja izazvanog mutacijama molekule DNA, što je utvrđeno smanjenjem mutacija mitohondrijske DNA [69].

$\beta$ -karoten na stanicama melanoma B16 značajno smanjuje broj kapilara koje se potencijalno mogu razviti u tumor, a vezane su uz promijenjene vrijednosti citokina. Smanjuje povišene vrijednosti citokina IL1- $\beta$ 1, IL-6 i TNF- $\alpha$ .  $\beta$ -karoten inhibira proliferaciju, migraciju i formaciju endotelnih stanica, smanjuje ekspresiju gena za MMP-2 i MMP-9, proksil hidroksilazu i lizil oksidazu, a povećava ekspresiju TIMP-1 i TIMP-2.  $\beta$ -karoten može također utjecati na stvaranje proupalnih citokina te inhibirati aktivaciju i tkivnu translokaciju NF- $\kappa$ B i nekih transkripcijskih faktora poput c-fos te time iskazati svoj antiangiogeni učinak. Angiogeneza je formacija novih krvnih žila iz postojeće mreže krvnih žila o čijem su stvaranju ovisni rast i metastaziranje tumora. Angiogeneza je rezultat balansa između pozitivnih i negativnih regulatora koji uključuju primjerice citokine i VEGF, a doprinijeti može i kronična upala [70].

*Cho i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem su dvije skupine ispitanika primala dvije doze  $\beta$ -karotena (30 i 90 mg/dan) kroz 90 dana uz izlaganje UV zračenju. U skupine je randomizirano podijeljeno 30 ispitanika. Rezultati su pokazali da  $\beta$ -karoten značajno utječe na prevenciju stvaranja

bora i smanjenje elastičnosti kože samo u skupini koja je suplementirala manju dozu. U toj skupini primijećeno je povećanje razina mRNA za prokolagen tipa I, smanjenje UV zračenjem nastalih timinskih dimera i 8-OHdG. Parametar MED značajno se povisio samo kod ispitanika koji su primali veću dozu, ali i koncentracija timinskih dimera i oštećenje DNA. Autori studije zaključili su da  $\beta$ -karoten u dozi od 30 mg/dan djeluje fotozaštitno, a u visokoj dozi može pokazati štetne učinke [71].

*Césarini i sur.* u kliničkom su ispitivanju ispitanicima suplementirali kompleks antioksidansa koji je sadržavao 3 mg prirodnog  $\alpha$ - i  $\beta$ -karotena, 3 mg likopena, 5 mg  $\alpha$ -tokoferola i 37,5  $\mu$ g selena kroz 7 tjedana uz izlaganje UV zračenju. U ispitivanju je sudjelovalo 25 ispitanika. Studija je pokazala smanjenje UV zračenjem izazvanog eritema, ekspresije p53 gena, uništenih stanica te razina lipoperoksida. Autori su zaključili da je ova studija potvrdila značajnu zaštitu od oksidacijskog stresa te zaštitu genoma i time potencijalnu zaštitu od tumora kože i starenja, a fotozaštita se može postići suplementacijom kroz 4-7 tjedana [72].

### **3.1.2.2 Učinak na eritem**

Učinkovitost suplementacije  $\beta$ -karotenom na pojavnost i intenzitet eritema istražena je u nekoliko kliničkih studija.

Suplementacija  $\beta$ -karotenom može smanjiti intenzitet eritema izazvanog sunčevim zračenjem [30]. Provedeno je kliničko, placebo kontrolirano ispitivanje *Heinricha i sur.* u kojem je sudjelovalo 36 ispitanika nasumično dodijeljenih jednoj od skupina. Jedna ispitivana skupini dobivala je  $\beta$ -karoten u dozi od 24 mg dnevno u obliku meke kapsule koja sadrži prirodni ekstrakt karotenoida iz alge *Dunaliella salina*, a druga je skupina dobivala kombinaciju 24 mg karotenoida u dnevnoj dozi (8 mg  $\beta$ -karotena, 8 mg likopena i 8 mg luteina), gdje je  $\beta$ -karotena bio iz istog izvora kao i u prvoj skupini. Nakon suplementacije su tretirani UV zračenjem. Istraživanje je trajalo 12 tjedana, a pokazalo je da se u skupinama koje su primale  $\beta$ -karoten i kombinaciju karotenoida učinkovito i s podjednakom učinkovitošću smanjuje intenzitet eritema izazvanog UV zračenjem [73].

Kliničko ispitivanje proveli su *Lee i sur.* u kojem je 22 ispitanika kroz 24 tjedna uz izlaganje UV zračenju suplementiralo 30 mg prirodnih karotenoida u biljnom ulju (29,4 mg  $\beta$ -karotena i 0,36 mg  $\alpha$ -karotena),



a svakih 8 tjedana povećavali su dozu za 30 mg. Rezultati su pokazali značajno povećanje vrijednosti MED, peroksidacija lipida se osjetno inhibirala u ovisnosti o primijenjenoj dozi. Autori su zaključili da suplementacija prirodnim karotenoidima može zaštititi kožu od eritema izazvanog UV zračenjem [74].

### **3.1.2.3 Doziranje $\beta$ -karotena**

Smatra se da je za postizanje osjetne zaštite potrebno je suplementirati  $\beta$ -karoten kroz barem 10 tjedana, u dozi od 10 mg dnevno [19, 23]. U provedenim kliničkim ispitivanjima korištene su doze od 3 – 30 mg dnevno kroz 7 – 24 tjedna suplementacije [71, 72, 73, 74]. U slučajevima pretjerane suplementacije kada se postižu povišene serumske vrijednosti beta karotena iznad 2.5 mg/l moguć je nastanak bezopasne narančaste pigmentacije kože koji se naziva karotenemija [23].

Uz brojne pozitivne učinke  $\beta$ -karotena, neka klinička ispitivanja pokazala su i potencijalne štetne učinke. Uz dugotrajno suplementiranje u visokim dozama (iznad 10 - 15 mg/dan) moguća je incidencija raka pluća, posebno kod pušača i radnika izloženih azbestu [19, 23].

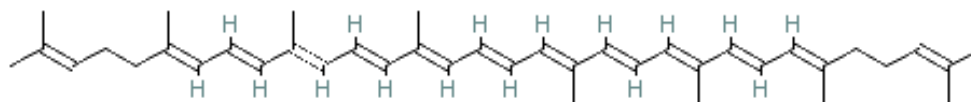
Smatra se da do toga dovode promjene u metabolizmu retinoida i povezanih signalnih putova, interakcije s fazom I metabolizirajućih enzima i prooksidacijska svojstva  $\beta$ -karotena koja se aktiviraju u prisustvu visokih koncentracija  $\beta$ -karotena [19]. Tijekom intenzivnog oksidacijskog stresa nastaju razgradni produkti lipidne oksidacije i neželjenih prooksidacijskih reakcija  $\beta$ -karotena poput reaktivnih aldehida i epoksida koji se u velikoj količini stvaraju u plućima [59]. Stoga, iako nema službenih smjernica, suplementacija  $\beta$ -karotenom ne preporučuje se pušačima.

### **3.1.3 Likopen**

Likopen je crveno obojeni fitonutrijent kojeg u velikoj količini nalazimo u rajčicama. Osim rajčica, likopen sadrže papaja, lubenica, grejp, mrkva i bundeva [53]. Unosi se u organizam kao sastavni dio dodataka prehrani ili konzumacijom likopenom bogatih namirnica [8].

Strukturno, likopen je karotenoid linearne strukture koji sadrži jedanaest konjugiranih i dvije nekonjugirane dvostruke veze (slika 2). Prvenstveno je potentan u gašenju  $^1\text{O}_2$  slobodnih radikala, a u tome je dvostruko potentniji od  $\beta$ -karotena i deset puta potentniji od  $\alpha$ -tokoferola [8, 53]. Kod ljudi se likopen u najvećim količinama akumulira u koži i krvi [75].

Bioraspoloživost likopena iz namirnica veća je nakon termalne obrade i unosa u organizam s lipidima. Termostabilni likopen se toplinskom obradom oslobađa iz matriksa hrane i postaje dostupniji lipofilnim sastavnicama za stvaranje lipidnih micela [8].



Slika 2 Strukturna formula likopena [76]

### 3.1.3.1 Mehanizam djelovanja

Poput ostalih karotenoida, likopen svojim antioksidacijskim svojstvom omogućuje smanjenje ili prevenciju štetnih učinaka slobodnih radikala u organizmu. Prvenstveno je učinkovit u hvatanju  $^1\text{O}_2$  i peroksi-radikala što mu omogućuju konjugirane dvostrukih veze i delokalizirani elektroni [53]. Osim učinka na neutralizaciju slobodnih radikala, likopen aktivira ekspresiju gena za NQO1, HO-1, glutathion reduktazu i glutathion S-transferaze. Mijenja aktivnost enzima koji doprinose stvaranju slobodnih radikala kao što su NADP(H) oksidaza, COX-2, 5-lipoksigenaza i iNOS [53, 60].

Kliničko, randomizirano, unakrsno ispitivanje proveli su *Chernyshova i sur.* u kojem su ispitanicima suplementirali sladoled obogaćen likopenom u dva perioda od 4 tjedna, između kojih je bilo mjesec dana stanke. Sudjelovalo je 10 ispitanika. Za izradu sladoleda koristila se 15% uljna smola likopena, a krajnji proizvod sadržavao je koncentraciju 0.14 mg/g. 934 mg uljne smole korišteno je za izradu jedne serije sladoleda, a u ovom ispitivanju iskorišteno je 8 takvih serija. Ispitanicima je sladoledom suplementirana dnevna doza od 7 mg. Rezultati su pokazali povišene koncentracije likopena u serumu i koži, smanjeno upalno oksidacijsko oštećenje i smanjene vrijednosti proteina LDL peroksidaze koja je biomarker oksidacijskog stresa [77]. Ova studija je dokaz da se koncentracije likopena nakon peroralne suplementacije povećavaju u koži.

Likopen štiti kožu i na molekularnoj razini od UV zračenjem induciranoog stvaranja molekulskih markera pojačavajući ekspresiju prokolagena 1 i inhibirajući ekspresiju UV zračenjem induciranih matriksnih metaloproteinaza.

Kliničko, randomizirano dvostruko slijepo ispitivanje proveli su *Grether-Beck i sur.* s TNC pastom koja sadrži dnevnu dozu likopena od 20 mg i kapsulama slobodnog luteina u dozi od 20 mg dnevno uz UV zračenje. Svaka skupina ispitanika konzumirala je pastu ili kapsule kroz 12 tjedana, a prije novog perioda od 12 tjedana napravila pauzu od 2 tjedna. U novom periodu spomenuti su ispitanici prešli na placebo, a placebo skupine na gore spomenute suplemente. U studiji je sudjelovalo 65 ispitanika. Studija je pokazala je da likopen inhibira UVA i UVB induciranu ekspresiju gena ICAM-1, enzima HO-1 i MMP-1 koji su indikatori oksidacijskog stresa. Lutein je također pokazao slične rezultate, ali samo u skupini koja je u prvih 12 tjedana suplementirala kapsule luteina [62].

Ljudski fibroblasti manje su osjetljivi na likopen u odnosu na stanice karcinoma u kojima on postiže svoj inhibični učinak i inducira apoptozu modifikacijom ekspresije transkripcijskih faktora i proteina uključenih u apoptozu [60].

### **3.1.3.2 Učinak na eritem i vidljive znakove fotoštećenja kože**

Učinkovitost suplementacije likopenom na pojavnost i intenzitet eritema istražena je u nekoliko kliničkih studija.

*Heinrich i sur.* proveli su kliničko, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su dvije skupine pacijenata suplementirane karotenoidima kroz 12 tjedana, od kojih je jedna koristila kombinaciju 3 mg likopena, 3 mg luteina, 4,8 mg  $\beta$ -karotena, 10 mg  $\alpha$ -tokoferola te 75  $\mu$ g selena dnevno dok je druga skupina uzimala 6 mg likopena, 4,8 mg  $\beta$ -karotena, 10 mg  $\alpha$ -tokoferola te 75  $\mu$ g selena dnevno. U studiji je sudjelovalo 39 ispitanika koji su bili podijeljeni u skupine od 13 ispitanika. Rezultati obje skupine pokazali su značajno povećanje debljine i gustoće kože te glatkoće i mekoće kože [78].

*Jenkins i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanici bili podijeljeni u skupine od 55 ispitanika u kojima su konzumirali visoko ili nisko dozirani pripravak. Konzumirali su pripravak koji sadrži 3 ili 8 mg likopena, 180 ili 250 mg vitamina C, 30 ili 250 mg vitamina E, 40 ili 70 mg sojinih izoflavona te 660 mg omega-3 masnih kiselina kroz 14 tjedana. Rezultati su pokazali smanjenu dubinu bora na licu što su autori povezali sa stvaranjem novih kolagenskih vlakana u *dermisu* [79].

*Rizwan i sur.* proveli su kliničku, randomiziranu, placebo kontroliranu studiju u kojoj su ispitanici kroz 12 tjedana konzumirali pastu rajčice sa 16 mg likopena dnevno uz izlaganje UV zračenju. Pasta rajčice se s maslinovim uljem konzumirala kao namaz na bijelom kruhu. U studiji je sudjelovalo sveukupno 20 ispitanika. Rezultati su pokazali smanjenje eritema te smanjenje ekspresije MMP-1 u odnosu na kontrolnu skupinu [80].

Zbog svoje antioksidacijske aktivnosti, likopen pokazuje sposobnost apsorpcije UV zračenja i eliminacije slobodnih radikala nastalih UV zračenjem. Ublažava fotooksidacijsko oštećenje i sprječava eritem izazvan UV zračenjem [53].

Kliničko, randomizirano, placebo kontrolirano ispitivanje koje su proveli *Stahl i sur.* uključivalo je konzumaciju likopena u obliku paste rajčice iz koje se u dnevnoj dozi unijelo 16 mg likopena, 0.5 mg  $\beta$ -karotena i 0.1 mg luteina. U studiji je sudjelovalo sveukupno 22 ispitanika, a trajalo je 10 tjedana. Opaženo je povećanje serumskih vrijednosti likopena u skupini koja je suplementirala pastu rajčice. Indeks intenziteta eritema (vrijednost dobivena 24 sata nakon izlaganja zračenju umanjena za vrijednost prije zračenja) značajno se smanjio u odnosu na vrijednost prije suplementacije. Studijom je primijećeno smanjenje eritema izazvanog UV zračenjem za 40% u skupini koja je suplementirala likopen u odnosu na kontrolnu skupinu [81].

*Aust i sur.* proveli su kliničku studiju koja je uključivala konzumaciju likopena kroz 12 tjedana u obliku kapsuliranog sintetskog likopena, kapsuliranog ekstrakta rajčice i napitka koji su sadržavali dnevnu dozu likopena od oko 10 mg. Sintetski likopen konzumirao se dnevno u obliku dvije tvrde kapsule od kojih je svaka sadržavale 5.1 mg likopena. Skupina koja je suplementirala ekstrakt rajčice uzimala je dnevno dvije meke kapsule od kojih je svaka sadržavala 4.9 mg likopena, 0.4 mg fitofluena, 0.5 mg fitoena i 0.2 mg  $\beta$ -karotena. Napitak rajčice konzumirao se dva puta dnevno po 250 ml, čiji je sadržaj bio 4.1 mg likopena, 1.6 mg fitofluena, 2.3 mg fitoena i 0.2 mg  $\beta$ -karotena. Svaka ispitivana skupina sastojala se od 12 ispitanika. Serumske vrijednosti likopena povećale su se otprilike dvostruko u svim ispitivanim skupinama u odnosu na serumske vrijednosti prije suplementacije. Indeks intenziteta eritema u skupini koja je uzimala sintetski likopen se blago smanjila u odnosu na vrijednost prije suplementacije, ali statistički nerelevantno. U skupinama koje su suplementirale ekstrakt rajčice i napitak opažene su

značajno manje vrijednosti indeksa intenziteta eritema, a razlike između te dvije skupine bile su statistički nerelevantne. Autori su zaključili da postoji razlika u učinkovitosti između sintetskog likopena i proizvoda rajčice što pripisuju sinergističkom učinku likopena, fitofluena, fitoena i  $\beta$ -karotena na apsorpciju UV zračenja u proizvodima dobivenim iz rajčice [82].

*Groten i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje u kojem su ispitanici kroz 12 tjedana suplementirali kapsulirani TNC pripravak koji je u dnevnoj dozi sadržavao 15 mg likopena, 5,8 mg fitoena i fitofluena, 0,8 mg  $\beta$ -karotena i 5,6 mg tokoferola iz ekstrakta rajčice te 4 mg karnozinske kiseline iz ekstrakta ružmarina. U studiji je sudjelovalo 149 ispitanika nasumično podijeljenih u ispitivanu i kontrolnu skupinu. Rezultati su pokazali učinkovitost suplementacije TNC na značajnu zaštitu od UVB zračenjem izazvanog eritema, što se pokazalo značajnim smanjenjem vrijednosti indeksa intenziteta eritema nakon 12 tjedana suplementacije. Utvrdila se i značajna zaštita od UVB zračenjem induciranih IL-6 i TNF- $\alpha$  [83].

### **3.1.3.3 Doziranje likopena**

U kliničkim istraživanjima uglavnom su korištene doze likopena do 3 - 20 mg/dan kroz 10 – 14 tjedana [62, 73, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83], ali i doze do 100 mg/dan nisu pokazale nikakve nuspojave. Smatra se da se zaštitni učinak likopena postiže korištenjem 5 - 7 mg likopena dnevno, a kod povećanih potreba (karcinoma) koristi se dnevna doza od 75 mg da bi se spriječila daljnja progresija bolesti [53]. Za postizanje učinka potrebna je suplementacija kroz barem 10 – 12 tjedana, a nakon 12 tjedana korištenja dolazi i do smanjenja postojećeg eritema [19, 54].

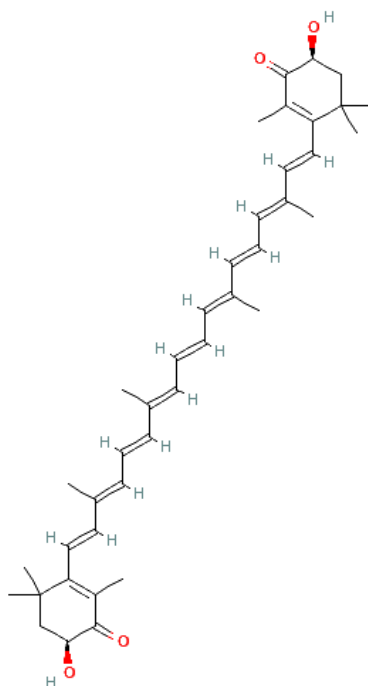
Likopenom bogata pasta rajčice TNC koja dnevno pruža dozu od 20 mg likopena štiti kožu od suncem stimuliranog eritema nakon 10 - 12 tjedana primjene [23, 62]. TNC sadrži 5 mg likopena, fitonutrijente iz rajčice poput fitoena i fitofluena, tokoferole i fitosterole u mekoj gel kapsuli [62].

### **3.1.4 Astaksantin**

Crveno narančasto obojeni astaksantin pripada skupini karotenoida ksantofila. Primarno se sintetizira u mikroalgama, fitoplanktonu, kvascu i bakterijama, a zatim se akumulira u zooplanktonu, rakovima i ribi

iz kojih se prehranom dalje prenosi na druge organizme. Može se ekstrahirati iz algi, škampi, račića krila, jastoga i ostalih rakova, morske zvijezde te nekih riba poput pastrve i lososa [1, 37, 38, 84].

Strukturno, astaksantin je 3,3'-dihidroksi- $\beta,\beta$ -karoten-4,4'-dion. Molekula astaksantina sastoji se od dva oksigenirana jononska prstena povezana s lancem konjugiranih dvostrukih veza. Prisutno je 13 konjugiranih polinezasićenih dvostrukih veza te hidroksilne i keto skupine na svakom prstenu. Prisutnost tih skupina karakteristična je za astaksantin i to ga razlikuje od ostalih karotenoida [9, 41, 51, 85, 87]. Struktura astaksantina prikazana je na slici 3.



Slika 3 Strukturna formula astaksantina [86]

Prirodni i sintetski dobiven astaksantin razlikuje se u strukturi, a zbog malog broja izvora prirodnog astaksantina i cijene njegove izolacije limitirano je korištenje u prehrambenoj industriji. Prirodno izoliran astaksantin dolazi u *trans* obliku (3S, 3S), dok sintetski dobiven astaksantin čini smjesa optičkih izomera i *mezo* spojeva u omjeru 1:2:1 (3R, 3'R), (3R, 3'S), (3S, 3'S) [85].

Apsorpcija astaksantina provodi se kao i kod ostalih karotenoida, a bolja je u prisustvu lipida [87].

Nakon unosa u organizam, astaksantin se akumulira u *dermisu* i *epidermisu*. U *dermisu* oslabljuje učinke UVA zračenja na metabolizam filagrina i razgradnju izvanstaničnog matriksa te sprječava deskvamaciju *epidermisa*. Akumulirani astaksantin djeluje kao zaštita od oksidacijskog stresa, održava mitohondrijski

redoks balans te podupire stanične rezerve i pojačava aktivnost glutaciona, superoksid dismutaze i cjelokupnog kapaciteta antioksidansa. Smanjuje razine slobodnih radikala, smanjuje stvaranje štetnih proizvoda oksidacije, suprimira upalne signale i smanjuje peroksidaciju lipida.

Maksimalne koncentracije dobivene iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* postižu se 7 do 21 sat nakon unosa, a poluvrijeme eliminacije ( $t_{1/2}$ ) kreće se od 16 do 30 sati.  $t_{1/2}$  je duže ako se uzima uz obrok. Bioraspoloživost astaksantina je 2,4 puta veća ako je u organizam unijet uz obrok. Pušenje ubrzava degradaciju astaksantina u organizmu te smanjuje njegovo poluvrijeme eliminacije i bioraspoloživost [37].

Diesteri astaksantina s dugolančanim zasićenim masnim kiselinama pokazuju veću termalnu stabilnost od monoestera astaksantina i slobodnog astaksantina. Stoga, veća duljina ugljičnog lanca, manje nezasićenih masnih kiselina i stupanj esterifikacije astaksantina povećavaju njegovu termalnu stabilnost [55].

Razvijaju se nove strategije dostave astaksantina u organizmu koje mogu povećati njegovu iskoristivost. Uklapa se u razne formulacije poput nanočestica i fosfolipidnih kompleksa koji mu omogućuju veću raspoloživost [1].

#### **3.1.4.1 Mehanizam djelovanja**

Astaksantin svojim snažnog antioksidacijskim, protuupalnim, antiapoptotičkim i imunomodulatornim djelovanjem te djelovanja na obnovu DNA, obnovu stanice i prevenciju oštećenja kože služi kao zaštita od oksidacijskog oštećenja, a djeluje kroz razne mehanizme poput gašenja slobodnih radikala, a posebice  $^1\text{O}_2$  u prevenciji lančanih reakcija, očuvanja struktura membrane, jačanjem funkcije imunološkog sustava i regulacijom ekspresije gena [1, 51, 37, 38, 87]. Prirodni astaksantin ima 40 puta veći potencijal gašenja slobodnih radikala i peroksidacije lipida od beta karotena i 1000 puta veći od  $\alpha$ -tokoferola (vitamina E) [37].

Astaksantinu molekularna struktura omogućava gašenje slobodnih radikala polarnim krajem, dok dvostruke veze u sredini molekule doniraju visokoenergetske elektrone slobodnim radikalima, stabiliziraju ih i prekidaju lančanu reakciju njihovog nastanka. Amfipatska struktura mu omogućuje

inkorporaciju kroz dvostruki sloj stanične membrane da bi ograničio lipidnu peroksidaciju i da bi hvatao slobodne radikale s vanjske i unutarnje strane fosfolipidnog dvosloja [9, 41, 51, 85, 87].

U *in vitro* studijama astaksantin je pokazao fotozaštitno djelovanje, inhibirao je apoptozu, smanjio je razine radikalnih kisikovih spojeva, smanjio ekspresiju HO-1, povećao aktivnost antioksidacijskih enzima superoksid dismutaza 2, katalaza i glutation peroksidaza 1 te pokazao superiorni učinak na fotooksidacijske promjene [1, 70]. Rezultati su pokazali učinkovitost astaksantina i na supresiju gena za COX-2 te time smanjenu sekreciju prostaglandina E2, smanjenu sekreciju IL-8, TNF- $\alpha$  i iNOS te inhibiciju fosforilacije NF- $\kappa$ B i MSK-1 [87-89]. Astaksantin značajno smanjuje i ekspresiju induciranih MMP te elastaze i endopeptidaze fibroblasta te fosforilaciju MAPK kinaza p38 i ERK1/2 [90, 91].

*In vivo* studije pokazale su učinak astaksantina na mjestu oksidacijskog stresa na smanjenje koncentracije MDA, povećanje aktivnosti superoksid dismutaze i glutation peroksidaze te smanjenje ekspresije XO i Nox koje doprinose stvaranju slobodnih radikala. Smanjio je ekspresiju upalnih citokina TNF- $\alpha$ , IL-6, IL1- $\beta$ 1 i iNOS. Astaksantin je smanjio i broj apoptotičkih stanica te ekspresiju kaspaze-3 i kaspaze-9 [36, 92].

*Karppi i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem je 20 ispitanika konzumiralo 8 mg astaksantina dnevno kroz 3 mjeseca u obliku kapsula koje su sadržavale astaksantin u slobodnom obliku te obliku mono- i diestera. U skupini koja je suplementirala astaksantin primijećene su povećane plazmatske vrijednosti astaksantina nakon 3 mjeseca suplementacije. Prema dobivenim rezultatima plazmatskih parametara, a prvenstveno smanjenim vrijednostima 12- i 15-hidroksi masnih kiselina, autori su zaključiti da suplementacija astaksantinom može smanjiti oksidaciju lipida [93].

*Chalyk i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem 31 ispitanik kroz 4 tjedna suplementirao 4 mg astaksantina dnevno. Rezultati studije pokazali su osjetno smanjene koncentracije MDA u plazmi te smanjenu deskvamaciju korneocita [94]. Marker oksidacijskog stresa MDA u organizmu se korištenjem astaksantina smanjuje, što se u studiji zamijetilo već i nakon 15 dana suplementacije, a s daljnjim korištenjem astaksantina njegova se vrijednost još više smanjila. Oksidacijski stres bitno utječe na



starenje i oštećenje kože, stoga antioksidacijski učinak astaksantina pozitivno utječe na mlađi izgled ljudske kože [37, 41, 94].

Astaksantin osjetno podupire funkciju imunološkog sustava pojačavajući proizvodnju imunoglobulina u limfocitima kao odgovor na stimulanse ovisne o T stanicama te povećava mitogenom induciranu proliferaciju limfocita T i B. Astaksantin ima mogućnost pojačanja citotoksičnog učinka prirodnih stanica ubojica (NK stanica) pri čemu one mogu služiti kao nadzorni sustav protiv tumorskih i virusom inficiranih stanica, a može pojačati učinak i citotoksičnih T limfocita. Aktivirane T stanice i NK stanice proizvode interferon IFN- $\gamma$  koji je uključen u regulaciju imuniteta i diferencijaciju B stanica. Stoga se smatra da astaksantin može pojačati imunološki odgovor i antitumorsku aktivnost te humoralnu i staničnu imunost. Studija je pokazala i povećane serumske vrijednosti astaksantina već nakon 4 tjedna suplementacije u obje skupine koje su ga suplementirale, čije su vrijednosti bile ovisne o primijenjenoj dozi. Primijetilo se smanjenje 8-OHdG, biomarkera oštećenja DNA te smanjenje koncentracije CRP proteina. Utjecaj astaksantina na imunološki sustav potvrđuje kliničko randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje uz kontrolnu placebo skupinu kojeg su proveli *Park i sur.*, a u kojem je 14 ispitanika uzimalo 2 ili 8 mg astaksantina iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* dnevno kroz 8 tjedana [1, 95].

Utjecaj astaksantina na supresiju sekrecije upalnih citokina, smanjene razine biomarkera oštećenja DNA 8-OHdG, enzimatske aktivnosti matriksnih metaloproteinaza i poboljšanu elastičnost kože potvrđuje kliničko randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje *Tominage i sur.* uz kontrolnu placebo skupinu u kojem je 22 ispitanika iz svake skupine uzimalo 6 ili 12 mg astaksantina dnevno kroz 16 tjedana u obliku kapsula s ekstraktom mikroalge *Haematococcus pluvialis* i uljem repice [96].

#### **3.1.4.2 Učinak na eritem i vidljive znakove oštećenja kože**

Astaksantin utječe na ljepšu teksturu kože, na smanjenje bora, veću elastičnost kože, smanjenje hiperpigmentacija i veći sadržaj vlage u koži (smanjeni transepidermalni gubitak vlage). Štiti kožu i od UV zračenjem izazvanog oštećenja [1, 37, 38, 87].

Astaksantin suprimira oštećenje stanice slobodnim radikalima i ekspresijom matriksnih metaloproteinaza (MMP-1, MMP-3 i MMP-9) nakon izlaganja UV zračenju. Matriksne

metaloproteinaze ubrzavaju degradaciju kolagena i elastičnih vlakana pojačavajući aktivnost elastaze pri čemu nastaju bore i smanjuje se elastičnost kože. Smatra se da astaksantin može inhibirati ekspresiju matriksnih metaloproteinaza u raznim stanicama, uključujući makrofage, dermalne fibroblaste i kondrocite, a inhibicijom matriksnih metaloproteinaza u dermalnim fibroblastima može se povećati udio kolagena i očuvati integritet i funkcija izvanstaničnog matriksa. Astaksantin utječe na smanjenu deskvamaciju korneocita, na smanjeno stvaranje upalnih citokina i MMP-1 u UVB ozračenim keratinocitima te povećava hidratacija i elastičnost kože [1, 9, 37, 87, 96].

Učinkovitost suplementacije astaksantinom na znakove oštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

*Ito i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje u kojem je 12 ispitanika kroz 9 tjedana suplementiralo kapsule koje su sadržavale 4 mg prirodnog astaksantina izoliranog iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* te bili izloženi UV zračenju prije i 9 tjedana nakon početka suplementacije. Rezultati su pokazali značajno povećanje vrijednosti MED nakon suplementacije astaksantinom te smanjeni gubitak vlažnosti kože u ispitivanoj skupini u odnosu na placebo. Vrijednosti MED i TEWL izmjerene su na početku studije i nakon 9 tjedana suplementacije. Ispitanici su subjektivno zaključili da im je koža mekša i glađa [97].

*Tominaga i sur.* proveli su dva klinička ispitivanja, od kojih jedno bez kontrolne skupine. U tom ispitivanju je 30 ispitanika suplementiralo dnevnu dozu od 6 mg astaksantina u obliku kapsula koje su sadržavale prirodni astaksantin izoliran iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* u ulju repice, paralelno koristeći topikalni pripravak astaksantina kroz 8 tjedana. Rezultati tog ispitivanja pokazali su smanjenje bora, smanjenje pigmentacijskih mrlja, veću elastičnost, bolju teksturu kože te veći udio vlage u korneocitima i bolje opće stanje korneocita. Autori su zaključili da astaksantin može poboljšati stanje kože u svim slojevima, čak i u korneocitima, *epidermisu*, bazalnom sloju i *dermisu*. Drugo provedeno ispitivanje bilo je dvostruko slijepo, kontrolirano, u kojem je 36 ispitanika suplementiralo 6 mg astaksantina dnevno kroz 6 tjedana, koristeći iste kapsule kao i u prethodnoj studiji. Parametri koje je astaksantin poboljšao bili su bore i elastičnost kože te TEWL [98].

Yoon i sur. proveli su kliničku, placebo kontroliranu studiju u kojoj je 22 ispitanika suplementiralo 2 mg astaksantina dnevno u obliku kapsula koje su sadržavale astaksantin izoliran iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* u ulju šafranike kombinirajući ih s hidrolizatom kolagena u dnevnoj dozi od 3 g kroz 12 tjedana. U ispitivanoj skupini vidjelo se značajno poboljšanje u elastičnosti i TEWL kože već nakon 4 tjedana suplementacije koje se statistički relevantno razlikovalo od rezultata u placebo skupini. Nakon 12 tjedana suplementacije povećala se ekspresija mRNA prokolagena tipa I i mRNA fibrilina-1, a ekspresija mRNA MMP-1 (kolagenazal) i MMP-12 (elastaza) smanjila se redom za 68% i 77%. Autori su zaključili da je poboljšanju viskoelastičnih svojstava kože doprinio hidrolizat kolagena koji ima svojstva zadržavanja i upijanja vlage, ali i astaksantin koji doprinosi poboljšanju TEWL štiteći diferencijaciju keratinocite od oksidacijskog oštećenja [99].

### 3.1.4.3 Doziranje astaksantina

Doze astaksantina korištene u kliničkim studijama bile su 2 – 12 mg/dan kroz 6 – 12 tjedana [94-99], a smatra se da suplementacija astaksantina u dozama 3 – 6 mg/dan pokazuje pozitivne učinke na ljudsko zdravlje. Kao suplement topljiv u mastima, preporučuje ga se uzimati u formulacijama na bazi ulja te uz obrok ili neposredno nakon obroka da se osigura optimalna apsorpcija u organizmu. Za primjenu kod ljudi koristi se astaksantin dobiven iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* koja ima veliki kapacitet njegove akumulacije, a suha biomasa akumulira do 4% astaksantina što predstavlja najveću prirodnu koncentraciju astaksantina. Astaksantin iz tog izvora odobren je od strane FDA u dnevnim dozama od 2 do 12 mg/dan. Superkričnom ekstraktu astaksantina ugljikovim dioksidom iz mikroalge *Haematococcus pluvialis* Europska komisija dodijelila je status *nove hrane* u prosincu 2017. godine [1, 85, 87].

Studije provedene s korištenjem visokih doza astaksantina (do 12 mg/dan) kroz duži period (16 tjedana) nisu pokazale nikakve neželjene nuspojave niti abnormalne vrijednosti u biokemijskim pretragama krvi [87, 100]. Kratkoročno su se provodile i studije s dozama do 100 mg/dan koje nisu pokazale nikakve promjene niti štetne učinke po organizam. U svijetu, doze astaksantina drugačije su regulirane, a dozvoljavaju se doze od 2 – 24 mg/dan. EFSA dozvoljava dozu 2 mg/dan, ali brojna istraživanja pokazuju dobar sigurnosni profil ovog karotenoida pri primjeni visokih doza prirodno dobivenog

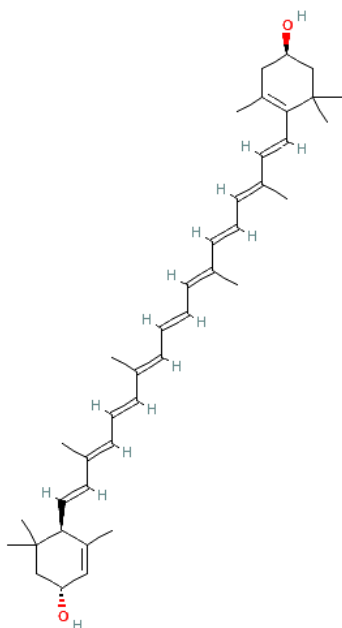
proizvoda. Prirodno dobiven astaksantin kao ekstrakt često sadrži i druge karotenoide (beta karoten, kantaksantin i lutein) [100].

### 3.1.5 Lutein i zeaksantin

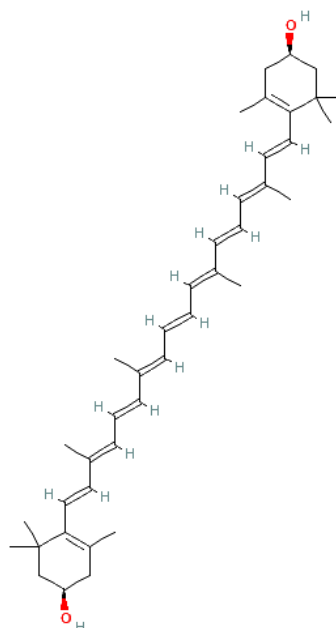
Lutein i zeaksantin su karotenoidi bitni prvenstveno za zdravlje očiju jer štite retinu od fototoksičnih oštećenja i smanjuju rizik od makularne degeneracije [23]. Osim učinka na vid, uloga ovih ksantofila u ljudskom organizmu je i fotozaštita, antioksidacijski učinak (protiv reaktivnih kisikovih spojeva i drugih slobodnih radikala), protuupalni učinak te održavanje strukture i funkcionalnosti bioloških membrana. U biološkim membranama se lutein, zeaksantin i *mezo*-zeaksantin nalaze u fosfolipidnom dvosloju gdje mogu biti vezani na razne proteine, a zbog svojih polarnih i nepolarnih regija usklađuju se s polarnim i nepolarnim regijama fosfolipida u membrani [101].

U visokim koncentracijama, ova dva ksantofila nalazimo zajedno u zelenom lisnatom povrću, poput špinata i kelja (oko 40 mg na 100 g) te u žumanjcima jajeta, a nešto manje u žuto – narančastom voću i povrću poput mrkve, naranče, breskve i papaje (oko 1 mg na 100 g) [12, 58]. Koncentracija luteina obično je veća od koncentracije zeaksantina u hrani, a taj omjer uglavnom iznosi 5:1 [102].

Zeaksantin je učinkovitiji antioksidans od luteina, što možemo zaključiti i iz njegove strukture koja sadrži duži sustav sastavljen od 11 konjugiranih dvostrukih veza koje su raspoređene kroz polienski lanac i jononski prsten. Također, pruža veću fotozaštitu i ima veći učinak na integritet staničnih membrana. Lutein je stereoizomer zeaksantina [58]. Stereoizomer zeaksantina najčešće prisutan u prirodi je 3R, 3R'-stereoizomer [102]. Strukturne formule luteina i zeaksantina prikazane su na slikama 4 i 5.



Slika 4 Strukturna formula luteina [103]



Slika 5 Strukturna formula zeaksantina [104]

Iako imaju veoma sličnu molekularnu strukturu, lutein je derivat  $\alpha$ -karotena, a zeaksantin je derivat  $\beta$ -karotena ( $\beta,\beta$ -karoten-3,3'-diol). Reakcija te pretvorbe može se odvijati u fotosintetskim organizmima (bakterijama i biljkama). Kod ljudi taj sintetski put ne postoji, prema tome ove je ksantofile u ljudski organizam potrebno unositi suplementacijom [12, 58, 101].

U ljudskom organizmu može doći do fotokemijske transformacije luteina u stereoisomer *mezo*-zeaksantin koji se prvenstveno nalazi u očnom tkivu. *Mezo*-zeaksantin je stereoisomer zeaksantina koji se ne unosi u organizam hranom niti se ne nalazi u jetri i cirkulaciji. U organizmu se nalazi samo u očnom tkivu [58]. Strukturalno je *mezo*-zeaksantin 3R,3'S-stereoisomer zeaksantina [102].

Na bolju apsorpciju zeaksantina utječe i matriks u kojem se hrana nalazi pri čemu se zeaksantin koji se nalazi u lipidnom matriksu puno bolje apsorbira. Termalna obrada može imati pozitivne i negativne učinke na bioraspoloživost zeaksantina. U sirovoj hrani i tijekom obrade hrane visoka temperatura može smanjiti koncentraciju zeaksantina, a istovremeno može ubrzati otpuštanje i solubilizaciju zeaksantina te doprinijeti njegovoj bioraspoloživosti. To se povezuje s remećenjem konzistencije matriksa hrane pri čemu dolazi do bolje ekstrakcije karotenoida. Vrsta polisaharida prisutnih u obroku može utjecati na bioraspoloživost zeaksantina. Primjerice, zeaksantin u matriksu baziranom na škrobu pokazuje bolju

bioraspoloživost od onog baziranom na alginatima. Alginati smanjuju propusnost intestinalne mukoze i inhibiraju apsorpciju lipida što doprinosi smanjenoj bioraspoloživosti [58].

### 3.1.5.1 Mehanizam djelovanja

Oba ksantofila mogu apsorbirati plavo zračenje valnih duljina 400 – 500 nm koje ima izrazito štetan oksidacijski potencijal te može prodrijeti u tkiva poput kože potencirajući nastanak reaktivnih kisikovih spojeva, mitohondrijske disfunkcije i upale [58]. Kao antioksidansi, ovi ksantofili smanjuju lipidnu peroksidaciju u koži te hvataju slobodne radikale, a posebno učinkovito  $^1\text{O}_2$  [12].

Iako je u strukturama luteina i zeaksantina razlika u jednoj konjugiranoj dvostrukoj vezi, zeaksantin je puno potentniji antioksidans od luteina. Zbog svojih hidrofilnih svojstava [58] koja mu omogućuju hidroksilne skupine na oba kraja molekule [105], zeaksantin ima bolja antioksidacijska svojstva i bolji je hvatač  $^1\text{O}_2$  nego ostali karotenoidi u vodenom mediju poput krvotoka. Zeaksantin iskazuje svoja antioksidacijska svojstva direktnim gašenjem reaktivnih kisikovih spojeva što mu strukturalno omogućuje lanac koji sadrži konjugirane dvostruke veze. Dvostruke veze primaju elektrone i energiju iz ekscitiranih molekula [58].

*In vitro* studije pokazale su da zeaksantin štiti stanice od oksidacijskog stresa i oštećenja, mitohondrijske disfunkcije i apoptoze. To postiže ubrzanom sintezom glutationa u stanicama RPE pri čemu dolazi do povećane translokacije receptora za Nrf2 i pri čemu se smanjuje aktivnost vezanja Nrf2 za Keap 1 u ARPE-19 stanicama u kojima je smanjen učinak zeaksantina na oksidacijski stres. Zeaksantin aktivira i PI3K/Akt i MAPK signalne putove [106]. Pokazalo se i da lutein ima veliki kapacitet hvatanja slobodnih radikala poput  $\text{OH}\cdot$  i  $\text{O}_2\cdot$  [107].

Već spomenuto kliničko, randomizirano dvostruko slijepo ispitivanje na 65 ispitanika proveli su Grether-Beck i sur. s TNC pastom koja sadrži dnevnu dozu likopena od 20 mg i kapsulama slobodnog luteina u dozi od 20 mg dnevno uz UV zračenje. Svaka skupina ispitanika konzumirala je pastu ili kapsule kroz 12 tjedana, te prije novog perioda od 12 tjedana napravili pauzu od 2 tjedna. U novom periodu su spomenuti ispitanici prešli na placebo, a placebo skupine na gore spomenute suplemente. Studija je pokazala je da lutein u skupini koja je u prvih 12 tjedana suplementirala kapsule luteina

inhibira UVA i UVB induciranu ekspresiju gena ICAM-1. Pokazuje također osjetnu molekularnu zaštitu od UV-B induciranih proupalnih citokina (IL-6 i TNF $\alpha$ ) i njihove smanjene vrijednosti u serumu inhibicijom ekspresije puta NF- $\kappa$ B [62].

### **3.1.5.2 Učinak na vidljive znakove oštećenja kože**

Osim što su korisni za zaštitu vida, u oku ovi ksantofili postižu i fotozaštitni učinak [101], a u mnogim ostalim tkivima štite od oksidacijskog stresa i sustavne upale [58]. Stoga se lutein i zeaksantin nalaze i u koži te pružaju zaštitu kože od UV zračenja. Sprječavaju štetne učinke UV zračenja smanjujući edem kože i sprečavaju ubrzanu degradaciju stanica [101]. Uz zaštitu od UV zračenja, lutein i zeaksantin štite kožu i od plavog svijetla te su stoga korisni u prevenciji i liječenju melazme [18].

U nekoliko kliničkih studija istražen je učinak suplementacije luteinom i zeaksantiom na pojavnost i intenzitet oštećenja kože izazvanog UV zračenjem.

*Palombo i sur.* proveli su kliničko, dvostruko slijepo, randomizirano, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanici suplementirali kapsule luteina u ulju šafranike, koje su sadržavale 5 mg luteina i 0,3 mg zeaksantina, dva puta dnevno kroz 12 tjedana. Dodatno, jedna je skupina uz suplementaciju dva puta dnevno nanosila i topikalni pripravak luteina i zeksantina, a druga je nanosila topikalni pripravak bez oralne suplementacije. Ispitanici su bili izloženi UV zračenju kroz trajanje studije. Rezultati studije pokazali su, u sve tri skupine, povećanu koncentraciju lipida u koži. U skupinama u kojima su se primjenjivali topikalni pripravak i kombinirani oralni i topikalni pripravak već se nakon dva tjedna pokazalo povećanje lipida u koži, a u skupini koja je samo oralno suplemenirala pripravak pokazao se manji inicijalni učinak. Ipak, rezultati nakon 6 tjedana, pa prema kraju studije pokazali su da se koncentracija lipida podjednako povećala u obje skupine koje su primjenjivale oralni pripravak te je to povećanje bilo znatno veće nego u skupini koja je pripravak nanosila samo topikalno. Na kraju studije rezultati povećanja koncentracije lipida bili su za 63% u skupini koja je koristila oralni i topikalni pripravak, za 46% u skupini koja je koristila samo oralni pripravak te za 23% u skupini koja je koristila samo topikalni pripravak u odnosu na početak studije. U sve tri ispitivane skupine primijećeno je značajno smanjenje peroksidacije lipida, što se mjerilo vrijednostima koncentracija MDA kroz trajanje studije. Nakon 12 tjedana primjene, primijećeno je najveće smanjenje lipidne peroksidacije u sve tri

skupine, ali najbolji rezultat pokazao se u skupinama koje su koristile i oralni pripravak. Fotozaštitnu aktivnost i zaštitu kože od slobodnih radikala u najvećoj su mjeri pokazale skupine koje su koristile i oralni pripravak. U te dvije skupine fotozaštitna aktivnost povećavala se do 8. tjedna te je nakon toga ostala konstantna. Studija je rezultirala i povećanom elastičnošću kože. Ovaj parametar je ipak bio najizraženiji u skupinama koje su koristile i topikalni pripravak. Skupina ispitanika koja je koristila samo oralni pripravak pokazala je povećanje elastičnosti kože nakon 2 i 4 tjedna te je nakon toga ostala nepromijenjena, ali povećanje je bilo značajno u odnosu na placebo. Značajno je povećana i hidratacija kože u sve tri skupine, ali do kraja studije ipak su podjednako najbolji rezultati postignuti u obje skupine koje su koristile oralni pripravak. Oralna primjena ovih ksantofila pokazala je značajno jači učinak na peroksidaciju lipida i zaštitu kože od slobodnih radikala u odnosu na topikalni pripravak i placebo [108].

Korištenjem luteina i zeaksantina kroz minimalno 2 tjedna pokazuje se veći stupanj hidratacije i elastičnosti kože. Provedeno je kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje *Morganti-ja i sur.* u kojem se kroz 8 tjedana suplementirao pripravak koji sadrži 6 mg luteina. U studiji je sudjelovalo 30 ispitanika podijeljenih u tri skupine, od kojih je jedna bila placebo. Jedna ispitivana skupina uz oralnu suplementaciju koristila je i nanokoloidalni gel baziran na  $\alpha$ -lipoičnoj kiselini i melatoninu koji se primjenjivao topikalno. U obje suplementirane skupine pokazalo se u prva dva tjedna primjene značajno smanjenje lipidne peroksidacije u koži i povećanje hidratacije kože. Ipak, najbolji rezultati postigli su se u skupini koja je koristila oralni i topikalni pripravak, gdje se hidratacija kože u odnosu na početak studije povećala s 55% na iznad 100%, a koncentracija lipida s 40% na 70%. Koncentracija slobodnih radikala u obje suplementirane skupine se dvostruko smanjila, a lipidna peroksidacija se smanjila za 30% - 40% [109].

*Schwartz i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem je jedna skupina ispitanika suplementirala oralni pripravak na bazi zeaksantina u kombinaciji s topikalnim pripravkom na bazi zeaksantina, dok je druga skupina koristila samo oralni pripravak kroz 12 tjedana. Oralni pripravak je osim zeaksantina sadržavao su i ulje krkavine, ceramide,  $\alpha$ -lipoičnu kiselinu, zeleni čaj, crvenu djetelinu, gotu kolu, francuski primorski bor te vitamine C, E i D<sub>3</sub>, a topikalni *Laminaria* i *Porphyra* alge, perfluordekalin, natrijev hijaluronat, klorelu, L-ergotionein, feruličnu kiselinu i



tokoferol. Rezultati su pokazali povećanu hidrataciju kože te smanjenje bora i finih linija na koži. U skupini koja je koristila oralni i topikalni pripravak pokazao se najbolji i značajno bolji rezultat u povećanju hidratacije kože u odnosu na skupinu koja je koristila samo oralni suplement. Međutim, skupina koja je samo oralno suplementirala pripravak pokazala je statistički značajno poboljšanje u teksturi finih linija na koži već nakon 4 tjedna i do kraja perioda suplementacije, ali u usporedbi s placeboom i skupina koja je koristila topikalni pripravak pokazala je značajan rezultat. Rezultati koji su dobiveni korištenjem oralnog suplementa pokazuju pozitivne učinke nutraceutika baziranih na antioksidansima, omega masnim kiselinama, fitoceramidima i biljnim ekstraktima na kožu [110].

Zeaksantin pokazuje sinergistički učinak s vitaminom E (tokoferolom) u biološkim membranama. Oni se mogu se reciklirati s antioksidansima topljivim u vodi, a njihovi oksidirani oblici ponovo se mogu reducirati s vitaminom C. Lutein i zeaksantin pokazuju sinergistički učinak i s nezasićenim masnim kiselinama, posebno s omega-3 masnim kiselinama. U regulaciji gena lipidne peroksidacije učinak imaju hormoni nastali iz omega-6 masnih kiselina koji iniciraju upalu i hormoni derivati omega-3 masnih kiselina koji imaju jak učinak u smirivanju upale. Stoga unos ovih sinergistički djelujućih antioksidacijskih spojeva postiže jak protuupalni učinak u organizmu [101].

### **3.1.5.3 Doziranje luteina i zeaksantina**

Dnevne doze zeaksantina korištene u znanstvenim studijama su 0,6 mg 0, a luteina 6 – 20 mg kroz 8 – 12 tjedana [62, 73, 108, 109]. Unos luteina u dozi 20 – 40 mg/dan te unos zeaksantina do 0,75 mg/kg dnevno smatraju se sigurnima [111].

### **3.1.6 Polifenoli**

Postoji veliki interes za korištenjem prirodnih sastavnica biljnog porijekla u svrhu zaštite od UV zračenja, a od tih sastavnica posebno se ističu polifenoli [3]. Glavni izvori polifenola u ljudskoj prehrani su voće, povrće, žitarice, čaj, eterična ulja te od njih dobiveni napitci i suplementi [33].

Polifenoli su prirodni pigmenti žute, crvene i ljubičaste boje koji mogu apsorbirati UV zračenje. Pokazuju protuupalna, imunomodulatorna i antioksidacijska svojstva, a zbog antimutagenog i antitumorskog učinka imaju ulogu i kemopreventivnih agenasa u brojnim kožnim bolestima [3, 33].

Pokazuju antimikrobna i antivirusna svojstva [33]. Kemijski su karakterizirani s jednom ili više fenolnih skupina u molekuli koje tu fenolnu hidroksilnu skupinu sadrže na aromatskom prstenu. Hidroksilna skupina ponaša se kao donor elektrona slobodnom radikalu ili drugim reaktivnim oblicima. Tako dolazi do inhibicije stvaranja slobodnih radikala, oštećenja DNA, proteina i lipida izazvanih slobodnim radikalima, nastanka upalnih citokina i aktivacije signalnih putova poput MAPK i NFκB koji reguliraju transkripcijsku aktivnost [25].

Bioraspoloživost i metabolizam polifenola ovisi o veličini molekule, stoga se manje molekule poput monomera katehina lako apsorbiraju kroz želučanu barijeru dok se velike molekule polifenola poput proantocijanidina i epigalokatehin-3-galata apsorbiraju slabije. Nakon apsorpcije, polifenoli se konjugiraju sa glukuronidima, sulfatima i metilnim skupinama na sluznici probavnog sustava. U crijevima se polifenolne molekule cijepaju na manje molekule ili metabolite koji sustavno mogu imati pozitivne učinke na metabolizam [3].

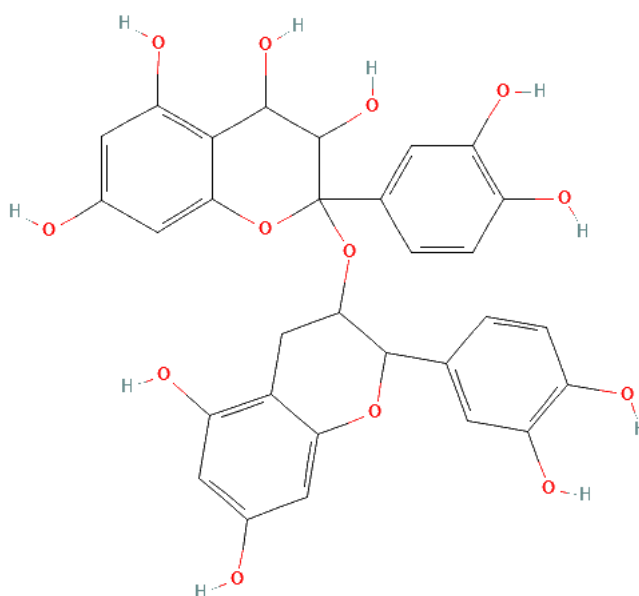
Polifenole možemo klasificirati u flavonoide i ne-flavonoide [25].

U biljnom svijetu nalazi se oko 5000 vrsta flavonoida. Strukturalno, baziraju se na flavanskoj jezgri koja sadrži dva benzenska prstena razdvojena kisikom koji tvori piranski prsten [31]. Uključuju katehine, izoflavone, proantocijanidine i antocijanine. Katehini se prvenstveno nalaze u listovima čaja, a sadrže pirokatehol. U njih ubrajamo katehin, epikatehin, galaktokatehin, epikatehingalat i epigalokatehin-3-galat. Izoflavoni sadrže floroglucinol. U izoflavone spadaju genistein i silimarin. Proantocijanidini (kondenzirani tanini) široko su rasprostranjeni u sjemenkama grožđa. Antocijanini su plavi pigmenti topljivi u vodi koji svojom bojom štite plodove, listove i sjemenke od štetnih učinaka UV zračenja, a nalazimo ga primjerice u naru [25]. Flavonoidi su djelotvorni u hvatanju slobodnih radikala, u apsorpciji UVA svjetlosti, imaju protuupalni učinak, antiapoptotički učinak te sprječavaju oštećenje DNA [31].

Skupina polifenolnih ne-flavonoida uključuje fenolne kiseline i stilbene. U fenolne kiseline ubrajamo benzojevu, galnu, cinaminsku, kofeinsku, feruličnu i p-kumarinsku kiselinu, a nalazimo ih u vinu i čaju. Pokazuju antioksidacijska i antineoplastična svojstva. Stilbeni su antimikrobni spojevi koje luče biljke. Najviše istražen spoj iz te skupine je glikozilirani *trans*-resveratrol [25].

### 3.1.6.1 Pknogenol

Pknogenol (Pcnogenol<sup>R</sup>), standardizirani ekstrakt kore francuskog primorskog bora (*Pinus pinaster*), sadži koncentrat polifenola i pokazuje brojne pozitivne učinke na kožu. Kao glavnu komponentu, sadži biopolimerne flavonoide procijanidine (65-75%) koji se sastoje od monomernih flavonoida katehina i epikatehina, taksifolina, fenolne i cinaminske kiseline te njihove glikozide [112-114]. Sastavnice pknogenola pokazuju visoku biorasploživost, a biološki učinak oligo-polifenolnih sastavnica puno je jači nego učinak svake pročišćene komponente monomera individualno, stoga ove sastavnice djeluju sinergistički [114]. Slika 6 pokazuje strukturnu formulu procijanidina.



Slika 6 Strukturna formula procijanidina [115]

#### 3.1.6.1.1 Mehanizam djelovanja

Pknogenol se može vezati na proteine koji su uključeni u metaboličke putove, mijenjajući njihovu strukturu, a time i aktivnost ključnih enzima i proteina. Sastavnice pknogenola pokazuju antioksidacijski, protuupalni učinak i učinak na hiperpigmentacije.

Fenolne kiseline, polifenoli i flavonoidi sadrže jedan ili više aromatičnih prstenova koji imaju jednu ili više hidroksilnih skupina, pa imaju potencijal hvatanja slobodnih radikala stvarajući rezonantno stabilizirane fenoksi-radikale [116]. Dakle, antioksidacijski učinak pknogenola pripisujemo aromatičnim prstenovima s više hidroksilnih skupina koji su strukturalni dijelovi fenolnih kiselina,

polifenola i flavonoida te imaju sposobnost hvatanja slobodnih radikala i stvaranja stabilnih fenoksi-radikala. Antioksidacijski učinak piknogenol prvenstveno pokazuje hvatajući reaktivne kisikove ( $O_2\cdot$ ,  $OH\cdot$ , lipidni  $ROO\cdot$ ) i dušikove spojeve ( $NO\cdot$  i  $ONOO^-$ ) [114].

*In vitro* studije pokazale su da se procijanidini metaboliziraju u gastrointestinalnom traktu djelovanjem mikroflore u aktivne metabolite (3,4 dihidroksi-fenil)- $\gamma$ -valerolakton i (3-metoksi-4-hidroksi-fenil)- $\gamma$ -valerolakton koji se zatim akumuliraju u eritrocitima [112, 117]. Oba metabolita pokazuju antioksidacijsku aktivnost, a (3,4 dihidroksi-fenil)- $\gamma$ -valerolakton pokazuje aktivnost u hvatanju slobodnih radikala [117]. Iako se ti aktivni metaboliti u plazmi nalaze u nanomolarnim koncentracijama, nakon unosa piknogenola u organizam oba metabolita osjetno pokazuju inhibični učinak na slobodnim radikalima izazvanu aktivnost metaloproteinaza (MMP-1, MMP-2 i MMP-9) [112, 117]. Piknogenol utječe i na inhibiciju aktivacije NF- $\kappa$ B, čime regulira ekspresiju različitih proupalnih citokina i sprječava upalni odgovor, vezanje za DNA i NF $\kappa$ B ovisnu ekspresiju gena te ekspresiju adhezijskih molekula ICAM-1 i VCAM-1 [39, 116, 117] čime se postiže povoljan učinak vezan uz kroničnu upalu [116, 118]. Piknogenol pokazuje i antitirozinaznu aktivnost i suprimira biosintezu melanina. Rezultati su također pokazali antioksidacijska svojstva piknogenola djelovanjem na supresiju  $\cdot O_2$ ,  $\cdot NO$ ,  $ONOO^-$  i  $\cdot OH$ , stoga Piknogenol na melanogenezu djeluje svojim antioksidacijskim svojstvima. Smatra se da antitirozinazni učinak piknogenola proizlazi i iz fenolnog prstena s više hidroksilnih skupina koji je ujedno prisutan i u tirozinu, a ima ulogu u inhibiciji tirozinaze [16].

#### **3.1.6.1.1.1 Učinak na hiperpigmentaciju, eritem i vidljive znakove fotooštećenja kože**

Piknogenol ima fotozaštitni učinak, može smanjiti hiperpigmentaciju kože te jača barijernu funkciju kože i homeostazu izvanstaničnog matriksa, što je istraženo u nekoliko kliničkih studija [113].

Provedeno je kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje autora *Lima-e i sur.* u kojem su ispitanici kroz 60 dana uzimali 75 mg piknogenola dva puta dnevno u kombinaciji s topikalnim pripravkom zaštitnog faktora SPF 50 i topikalnim pripravkom protiv pigmentacija (kombinacija hidrokinona, tretinoina i fluocinolona), dok je kontrolna skupina koristila samo topikalne pripravke. Studija je provedena na 22 ispitanika sa srednjim ili težim oblikom melazme u svakoj skupini. U skupini koja je koristila piknogenol utvrđeno je veće smanjenje mMASI indeksa (za

15% u odnosu na placebo). Rezultati su pokazali i manju incidenciju teleangiektazije u skupini koja je koristila piknogenol (za 10% u odnosu na placebo), a smatra se da piknogenol smanjuje endotelnu proliferaciju u melazmi. Zaključeno je da piknogenol pojačava učinak topikalnih pripravaka protiv pigmentacija i pripravaka sa zaštitnim faktorom u tretiranju melazme. Piknogenol štiti endotel od oksidacijskih oštećenja i sprječava transkripciju gena za NF- $\kappa$ B te inhibicijom ekspresije VEGF smanjuje vaskularnu komponentu u melazmi [27].

Kliničko ispitivanje koje su proveli *Ni i sur.*, u kojem je ispitanicima s melazmom kroz 30 dana suplementiran piknogenol doziran tri puta dnevno po 25 mg. U studiji je sudjelovalo 30 ispitanika. Rezultati su pokazali značajno smanjenje veličine melazme i intenziteta pigmentacije [119].

Pokazuje sinergistički učinak s vitaminima C i E regenerirajući askorbil-radikal i štiteći endogeni vitamin E i glutation od oksidacijskog stresa, te pojačava endogeni antioksidacijski sustav enzima [20, 116]. Smatra se da mu je antioksidacijski učinak jači od učinka vitamina C i E te da ima depigmentirajući učinak na melazmu.

U kliničkom ispitivanju koje su proveli *Marini i sur.*, 20 ispitanika suplementiralo je piknogenol kroz 12 tjedana u dozi od 25 mg tri puta dnevno. Utvrđeno je da se oralnim unosom piknogenola regulira ekspresija gena koji su u ljudskoj koži uključeni u sintezu melanina. Unos piknogenola značajno inhibira UV zračenjem induciranu aktivnost transkripcijskog faktora vezanog uz mikroftalmiju, tirozinazom vezan protein-1 i melanomski antigen kojeg prepoznaju T stanice te smanjuje mRNA ekspresiju tirozinaze. Zamijećeno je povećanje hidratacije kože za 8% nakon 6 tjedana suplementacije, povećanje elastičnosti kože nakon 6 tjedana suplementacije. Poboljšanje elastičnosti kože rezultat je značajnog povećanja u ekspresiji mRNA za enzim hijaluronska kiselina sintetazu-1, koji je bitan za sintezu hijaluronske kiseline u koži te povećanjem aktivnosti gena uključenih u sintezu kolagena. Unos piknogenola utječe i na homeostazu izvanstaničnog matriksa, a time i na glatkoću i elastičnost kože zbog povećane aktivnosti ekspresije gena koji sudjeluju u sintezi kolagena i hijaluronske kiseline. Osim u *dermisu*, povećana hidratacija kože nakon suplementacije piknogenolom postiže se i u *epidermisu*. To se postiže povećanom ekspresijom gena uključenih u diferencijaciju keratinocita i stvaranja epidermalne barijere [113, 120].

U kliničkom, randomiziranom, dvostruko slijepom, placebo kontroliranom ispitivanju koje su proveli *Zhao i sur.*, ispitanici su suplementirali dva puta dnevno 50 mg pknogenola kroz 12 tjedana. U studiji je sudjelovalo 76 ispitanika. Rezultati su pokazali da oralna suplementacija pknogenolom smanjuje vidljive znakove starenja kože, povećava mekoću i elastičnost kože, sprječava dehidraciju kože, TEWL te tamnjenje i eritem kože izazvano štetnim UV zračenjem [112, 117].

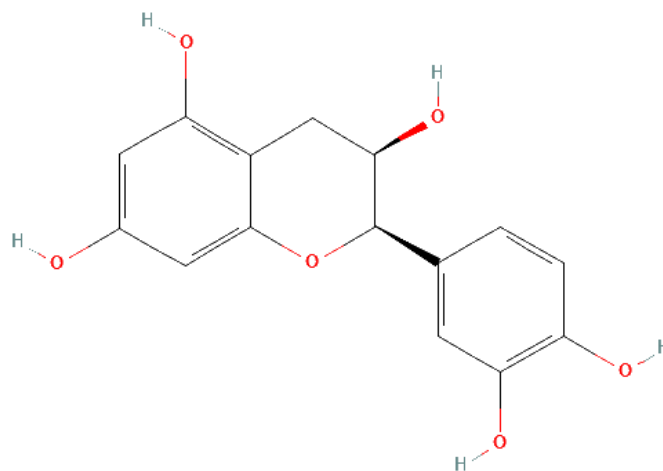
Preliminarno istraživanje na ljudima koje su proveli *Saliou i sur.*, a u kojem je 21 ispitanik dobivao pknogenol u dozi od 1,10 mg/kg dnevno kroz 4 tjedna, a zatim 1,66 mg/kg dnevno kroz naredna 4 tjedna pokazalo je značajno povećanje parametra MED. Značajno povećanje MED uvidjelo se već nakon prva 4 tjedna suplementacije, a nakon naredna 4 tjedna vrijednost MED još se više povećala. Dakle, ispitivanje je pokazalo preventivni učinak pknogenola od UV zračenjem izazvanog eritema [39].

#### **3.1.6.1.2 Doziranje**

Prema studijama obrađenim ovim radom, može se zaključiti da se zaštitni učinak pknogenola od UV zračenja postiže nakon 8 – 12 tjedana suplementacije u dozama od 75 – 150 mg dnevno, a utvrđena je dobra podnošljivost pknogenola pri tim dozama [27, 31, 112, 119, 120].

#### **3.1.6.2 Polifenoli sjemenke kakaa**

Kakao (*Theobroma cacao*) je drvo čiji je plod, sjemenka kakaa, bogat flavanolima koji su, kao podvrsta polifenola, prirodni antioksidansi i protuupalne molekule, a koje imaju mogućnost spriječiti oštećenje kože izazvano UV zračenjem [121]. Flavanolu u kakau sastoje se od monomera epikatehina te oligomera procijanidina sastavljenih od monomera katehina i epikatehina [122]. Uz flavanole, kakao sadrži velike količine metilksantina poput kofeina, teobromina i teofilina [25], a u nižim količinama sadrži i druge polifenole poput flavona (luteolin, apigenin), flavanona (naringenin), flavonola (kvercetin, izokvercetin, hiperozid), fenolnih kiselina i antocijana [122]. Strukturna formula epikatehina prikazana je na slici 7.



Slika 7 Strukturna formula epikatehina [123]

### 3.1.6.2.1 Mehanizam djelovanja i učinak na kožu

Flavanoli iz kakaa pozitivne učinke pokazuju antioksidacijskim djelovanjem i protuupalnim djelovanjem.

Smatra se da antioksidacijski učinak kakaa i njegovih flavanola proizlazi iz njihove strukture, a temelji se na hidroksilaciji flavanskog prstena, posebice 3',4'-dihidroksilaciji katehinskog prstena, duljini oligomernog lanca i stereokemijskih svojstava molekule. Kemijska struktura flavanola odgovorna je za svojstva donacije vodikovog atoma, gašenje slobodnih radikala i antioksidacijska svojstva koja proizlaze iz sposobnosti keliranja metala [48]. Antioksidacijska svojstva u ljudi mogu biti limitirana zbog slabe bioraspoloživosti i opsežnog metabolizma flavanola, a time i njihove niske koncentracije u tkivima i krvotoku, ali ipak imaju bitnu ulogu u prevenciji oksidacijskog stresa. Uz flavanole, kakao sadrži velike količine metilksantina poput kofeina, teobromina i teofilina koji pokazuju svojstva hvatanja slobodnih radikala u koži nakon izlaganja UV zračenju [25].

Kakao i flavanoli mogu spriječiti štetu izazvanu slobodnim radikalima izmjenama djelovanja enzima vezanih uz oksidacijski stres (katalaza, sintetaza dušikovog oksida, glutation peroksidaza, glutation reduktaza, superoksid dismutaza). Mogu djelovati i regulacijom redoks osjetljivih transkripcijskih faktora (Nrf2, NF- $\kappa$ B) [48, 122]. Zbog inhibicije aktivacije NF- $\kappa$ B smanjeno je stvaranje interleukina

IL-2 [124]. Procijanidini iz kakaá takóđer inhibiraju i aktivaciju MAPK te ekspresiju matriksnih metaloproteinaza [2].

*In vitro* studije utvrdile su antioksidacijski potencijal kakaá, potencijal na inhibiciju enzima kolagenaza i elastaza te tirozinaza [125].

Kliniĉko, randomizirano, dvostruko slijepo, unakrsno, placebo kontrolirano ispitivanje proveli *su Barrera-Reyes i sur* u kojem je sudjelovalo 20 ispitanika. Ispitanici su jednokratno konzumirali kakao prah s visokim udjelom polifenola (1,3 g ekstrakta je sadržavao otprilike 50% polifenola). Dva sata nakon unosa, kada se prema rezultatima prethodnih studija postiže najveća koncentracija epikatehina u plazmi, utvrđeno je smanjeno stvaranje slobodnih radikala, smanjena aktivacija leukocita i inhibicija upalnog odgovora. Ispitivanje je provedeno izolacijom mononuklearnih stanica iz periferne krvi ispitanika [126].

U kliniĉkom, randomizirano, unakrsnom ispitivanju koje su proveli *Vásquez-Agell i sur.* ispitanici su konzumirali 40 g kakaá s vodom ili s mlijekom. 40 g kakaá sadržavalo je 28.2 mg epikatehina, 8.4 mg katehina, 25.5 mg procijanidina B<sub>2</sub>, 1.35 mg izokvercetina, 0.23 mg kvercetina, 0.17 mg kvercetin-3-glukuronida i 1.45 mg kvercetin-3-arabinozida. U studiji je sudjelovalo 18 ispitanika. Šest sati nakon unosa uzeti su uzorci krvi iz kojih su izolirane mononuklearne stanice iz periferne krvi. Vodeni napitak kakaá znaĉajno je smanjio aktivaciju NF- $\kappa$ B i ICAM koncentraciju u odnosu na napitak s mlijekom, nakon ĉije primjene se nije promijenila koncentracija NF- $\kappa$ B u odnosu na poĉetnu koncentraciju. Napitci s višim udjelom masnoća poput mlijeka pojaĉavaju aktivaciju NF- $\kappa$ B, stoga se smatra da je za bolji uĉinak vodenog napitka zasluŹna bolja bioraspoloŹivost [127].

#### **3.1.6.2.1.1 Uĉinak na eritem i vidljive znakove fotooštećenja koŹe**

Uĉinkovitost suplementacije kakaom na pojavnost fotooštećenja koŹe istraŹena je u nekoliko kliniĉkih studija.

*Gasser i sur.* proveli su *ex vivo* ispitivanje koje je pokazalo pozitivan uĉinak na strukturu koŹe nakon 5 dana. Rezultati su pokazali zadebljanje *epidermisa* i povećanje u gustoći kolagena u *dermisu* ekspresijom kolagena tipa I [128].



U kliničkom ispitivanju koje su proveli *Calvazara-Pinton i sur.* suplementirao se kakao bogat sadržajem polifenola (219.6 mg), flavanola (55.1 mg), epikatehina (23.32 mg), katehina (12.15 mg), kofeina (5.1 mg), teobromina (29.3 mg) i teofilina (1.36 mg). Navedene vrijednosti bile su prisutne u 1 g kakaa. U studiji je sudjelovalo 10 ispitanika. Suplementacijom 4-6 g praha (ovisno o masi ispitanika) dva puta dnevno kroz tjedan dana pokazalo je smanjenje eritema kože 24 sata nakon zračenja [124].

Kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje *Yoon-a i sur.* pokazalo je da konzumacija kakaa ima pozitivan učinak na vidljivost bora i elastičnost kože. U svakoj skupini sudjelovao je 31 ispitanik. Kroz 24 tjedna ispitanici su konzumirali napitak kakaa koji sadrži 320 mg ukupnih flavanola. Nakon 24 tjedna suplementacije u skupini koja je suplementirala kakao rezultati su pokazali značajno smanjenje bora i povećanje elastičnosti kože. Pozitivno je djelovao i na povećanje MED vrijednosti, stoga možemo zaključiti da napitak kakaa pozitivno utječe na fotostarenje [129].

U studiji koju su proveli *Neukam i sur.*, dvije vrste ispitanika konzumirala su kakao napitak s većim (329 mg) i manjim (27 mg) udjelom kakaovih flavanola. U studiji je sudjelovalo 10 ispitanika. Mjerenjem je ustanovljeno da je 2 sata nakon konzumacije u grupi koja je uzimala napitak s većim udjelom flavanola, prokrvljenost kože i zasićenost krvi kisikom osjetno veća [130].

Iste napitke s 329 i 27 mg flavanola ispitivali su *Heinrich i sur.* u kliničkom, dvostruko slijepom ispitivanju. Napitak s većim udjelom flavanola sadržavao je u dnevnoj dozi 61 mg epikatehina i 20 mg katehina, a napitak s manjim udjelom flavanola 6.6 mg epikatehina i 1.6 mg katehina. 24 ispitanika u dvije skupine ispitanika konzumiralo je napitak s većim i manjim udjelom flavanola kroz 12 tjedana. Utvrđeno je da je samo u skupini koja je uzimala napitak s većim udjelom flavanola eritem izazvan UV zračenjem osjetno smanjen, povećana je prokrvljenost kože i supkutanog tkiva, a utvrđeno je i poboljšanje u gustoći i hidrataciji kože. Koža je u toj skupini bila mekša i glađa [131].

Kliničko, dvostruko slijepo istraživanje kojeg su proveli *Williams i sur.* uključivalo je dvije skupine, od kojih je jedna dobivala čokoladu s većim udio flavanola (>600 mg), a druga s manjim udjelom flavanola (<30 mg) koju su konzumirali jednom dnevno kroz 12 tjedana. U studiji je sudjelovalo 30 ispitanika.

Rezultati su pokazali da ispitanici u skupini s većim udjelom flavanola znatno pokazuju povećanje MED vrijednosti na koži nakon 12 tjedana suplementacije [132].

Iz ovih kliničkih studija zaključiti možemo da osim fotozaštitnog učinka, prisutni polifenoli imaju i druge pozitivne učinke na kožu kao što su manji TEWL veća gustoća i debljina kože, smanjenje bora i veća elastičnost kože te bolja kutana i supkutana cirkulacija i zasićenost kisikom [122].

Kratkotrajna suplementacija kakaom koji sadrži visoku koncentraciju flavanola povećava se prokrvljenost kože, što može utjecati na dostavu nutrijenata u kožu. Dužom suplementacijom povećava se gustoća i debljina kože te se smanjuje nastanak UV zračenjem izazvanih upala [20].

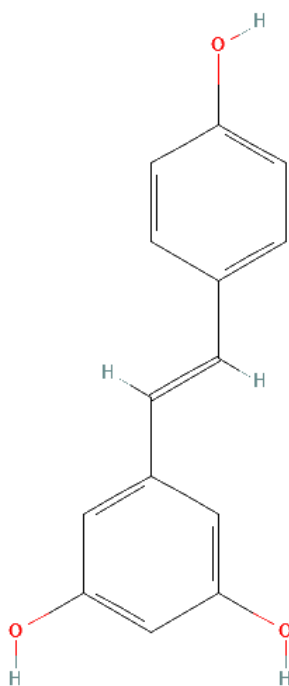
Međutim, sadržaj fenolnih komponenata jako može varirati između sjemenke kakaa i proizvoda derivata sjemenke, ovisno o uvjetima procesiranja i podrijetlu sjemenke kakaa. Tijekom procesiranja alkalizacijom može doći do 60% gubitka ukupnog sadržaja flavonoida [48].

#### **3.1.6.2.2 Doziranje**

U kliničkim ispitivanjima korištene su doze 320 – 600 mg flavanola [129-132]. Istraživanja pokazuju pozitivne učinke na kožu pri primjeni kakaa s visokom koncentracijom flavanola (>326 mg) kroz minimalno 12 tjedana [129-132]. Redovita primjena kakaa bogatog flavanolima doprinosi fotozaštiti i održava kožu zdravom. Ti rezultati povezani su s antioksidacijskim i protuupalnim svojstvima kakaovih flavanola te s boljom prokrvljenosti i boljom ekspresijom glikozaminoglikana i kolagena u koži [122]. Primijećena je osjetno bolja elastičnost kože, koža je mekša s vidljivim smanjenjem dubina bora. Smanjen je UV zračenjem izazvan eritem i TEWL, a povećani su gustoća i debljina kože, hidratacija te prokrvljenost kutanog i supkutane tkiva [75].

### 3.1.6.3 Polifenoli sjemenke grožđa

Sjemenke grožđa sadrže brojne polifenole poput resveratrola, flavanola (katehin i epikatehin), flavonola (kvercetin), procijanidina, antocijanina i fenolne kiseline [25, 133, 134]. Resveratrol, prirodni antioksidans fitoaleksin koji se nalazi u koži i sjemenkama grožđa te crnom vinu [2], pokazuje pozitivne terapijske učinke na mnoge poremećaje, uključujući i poremećaje kože [32]. Polifenol kvercetin je flavonoid koji pokazuje snažan antioksidacijski učinak [2]. Slika 8 pokazuje strukturnu formulu resveratrola.



Slika 8 Strukturna formula resveratrola [135]

#### 3.1.6.3.1 Mehanizam djelovanja

Sjemenke grožđa pokazuju antioksidacijski, protuupalni učinak, antiapoptotički učinak na kožu [33].

Istraživanja *in vitro* pokazuju da proantocijanidini sjemenki grožđa inhibiraju UV zračenjem izazvano oštećenje ljudskih keratinocita zahvaljujući njihovoj antioksidacijskoj aktivnosti. Zapaženo je značajno smanjenje u koncentracijama slobodnih radikala, peroksidacije lipida i oksidacije proteina [136]. Djeluje na degradaciju Keap1 proteina i povećanu akumulaciju Nrf2 u jezgri što potiče aktivnost antioksidacijskih enzima [137]. Povoljno djeluje na popravak oštećenja DNA te na smanjenje koncentracije CPD i 6-4 fotoproizvoda te apoptotičkih stanica [136]. Flavonoidi iz grožđa djeluju na dermalnu mikrovaskulaturu sprječavajući UVA zračenjem potaknuto oslobađanje ICAM-1. Također,

flavonoidi inhibiraju UVA induciranu sintezu kolagena tipa III (koji se starenjem kože stvara u velikom omjeru naspram kolagena tipa I) te razinu ribonukleinske kiseline (RNA) i proteina [134]. Resveratrol potiče kemoprevenciju i inhibira fotokancerogenezu u UVB zračenjem oštećenoj koži i mehanizmom inhibicije aktivacije signalnog puta NF- $\kappa$ B [138]. Zaključeno je da su resveratrol i UVB zračenje u kombinaciji poremetili signalni put NF- $\kappa$ B inhibicijom fosforilacije i inhibicijom fosforilacije transduktora signala i aktivatora transkripcije STAT1 u JAK-STAT signalnom putu te da oni sinergistički djeluju protiv kancerogeneze stanica kože [139, 140]. Resveratrol inhibira fosforilaciju ERK1/2 signalnog puta, reducira c-Jun protein, a time i aktivnost AP-1 te tako djeluje antiproliferativno u stanicama karcinoma [141].

Ispitivanjima na modelu *in vivo* pokazalo se djelovanje proantocijanidina sjemenki grožđa na prevenciju smanjenog učinka endogenih antioksidacijskih enzima poput glutation peroksidaze i katalaze u koži. Inhibiran je i UV zračenjem izazvan nastanak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksidacije lipida, proteina i NO [142]. Primijećena je i visoka koncentracija HO-1, koja ima ulogu u prigušivanju djelovanja unutarstaničnih slobodnih radikala [143]. Dakle, možemo zaključiti da proantocijanidini sjemenki grožđa smanjuju oksidacijski stres. Studija je pokazala i učinak inhibicije signalnih putova MAPK i NF- $\kappa$ B na fotozaštitu smanjenjem fosforilacije proteina MAPK (ERK1/2, JNK, p38), koje je izazvano UV zračenjem. Inhibiralo se i stvaranje proupalnih citokina poput TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  te iNOS i COX-2 [142]. Utvrdila se i djelomična supresija Nrf2 izazvana UV zračenjem, koji je ipak ostao rezistentan i u visokoj koncentraciji se akumulirao u jezgri stanica kože kod miševa koji su primali resveratrol. Aktivacija signalnog puta Nrf2 antagonizira signalni put NF- $\kappa$ B, stoga je transkripcija matriksnih metaloproteinaza regulirana aktivacijom AP-1 i MAPK. Ekspresija MMP-1 i MMP-9, koja se osjetno pojačala nakon UV zračenja, smanjila se nakon uzimanja resveratrola. Prema tome, smatra se da resveratrol svojim protuupalnim djelovanjem sprječava fotostarenje i nastanak bora [143]. Antiapoptotički učinak potvrđen je djelovanjem na inhibiciju UVB zračenjem izazvane aktivacije iNOS te stvaranja NO. Suprimirana je aktivacija NF- $\kappa$ B, aktivacija ERK1/2, proliferacija stanica, aktivnost p53, kaspaze-3, Bcl-2 te nuklearni antigen proliferacije stanica [144].

### 3.1.6.3.1.1 Učinak na eritem i hiperpigmentacije

Polifenoli sjemenki grožđa djeluju rekonstruktivno na obnovu oštećenih stanica u dubokim slojevima kože stimulirajući regenerativne procese kolagena i elastina. Time se ojačava struktura kože i ubrzava obnova kože [7].

Učinkovitost suplementacije polifenima sjemenki grožđa na pojavnost i intenzitet eritema i fotooštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

U kliničkom ispitivanju kojeg su proveli *Moehrle i sur.* sudjelovalo je 15 ispitanika podijeljenih u tri skupine, od kojih su dvije skupine crno vino nanosile topikalno (jedna skupina prije, a druga skupina nakon izlaganja UVB zračenju), a treća skupina je vino (2100 mg polifenola/L) unosila peroralnim putem. Topikalna primjena niti u jednoj skupini nije pokazala promjenu u statusu parametra MED, dok se u skupini koja je vino s visokim udjelom polifenola konzumirala u većoj količini (500 ml) kroz kraće razdoblje (40 min) neposredno nakon izlaganja zračenju, pokazalo odmah statistički značajno povećanje parametra MED. Iz toga su autori zaključili da unos vina neposredno nakon izlaganja UVB zračenju vodi protuupalnom učinku u koži i učinku na obnovu kože i smanjenje eritema [145].

*Yamakoshi i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem je suplementiran ekstrakt sjemenki grožđa bogat proantocijanidinima (54 mg proantocijanidina) tri puta dnevno kroz 6 mjeseci te kroz narednih 5 mjeseci nakon stanke od dva mjeseca. U studiji je sudjelovalo 12 ispitanika. Opaženo je da se nakon 6 mjeseci melazma smanjila te da nakon narednih 5 mjeseci primjene nije došlo do dodatnog poboljšanja. Autori smatraju da je dodatnih 5 mjeseci suplementacije preporuka koristiti prije ljetnih mjeseci da ne bi došlo do pogoršanja stanja bolesti. Studija je dokazala da oralnim unosom ekstrakta sjemenki grožđa može doći do redukcije u hiperpigmentaciji melazme, a pretpostavlja se da je razlog tome inhibicija melanogeneze ili proliferacije melanocita na mjestu melazme [146].

Kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje proveli su *Tsuchiya i sur.* na 100 ispitanika, a ispitanicima su suplementirali napitak s 200 mg proantocijanidina iz grožđa, jednom dnevno kroz 12 tjedana. Nakon 12 tjedana primjene značajno se smanjio indeks melanina i jačina

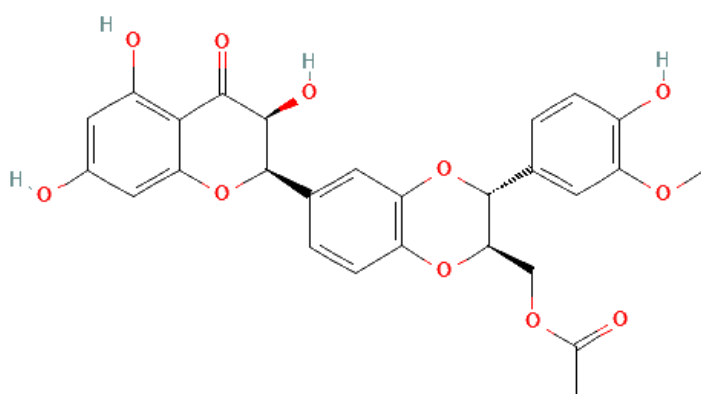
pigmentacije u odnosu na početak studije. Utvrđeno je značajno povećanje hidratacije kože u *stratum corneumu* [147].

### 3.1.6.3.2 Doziranje

Klinička ispitivanja u kojima je suplementiran ekstrakt sjemenki grožđa sadržaja 162 – 200 mg proantocijanidina kroz 3 - 6 mjeseci pokazuju vidljivo smanjenje indeksa stvaranja melanina i veličinu melazmi te povećan sadržaj vode u *stratum corneumu* [146, 147].

### 3.1.6.4 Silimarin

Silimarin označava standardiziranu mješavinu polifenolnih flavonoidnih sastavnica biljnog porijekla koja se dobiva iz sjemenke sikavice (*Slibum marianum*, Asteraceae/Compositae), a sadrži tri vrste flavonolignana – silibine, silkristine i sildijanine. Silibini su, kao glavna aktivna sastavnica silimarina, prisutni u obimu 60-70% te imaju glavni značaj u terapijskim učincima silimarina, a nalaze se u obliku dva diastereoizomera – silibin A i silibin B. Flavonolignani kao glavne sastavnice, u silimarinu nalaze se u količini 70-80%, a uz njih su prisutne i masne kiseline u količini 20-35%, flavonoid taksifolin i ostali polifenoli. Silkristin se nalazi u količini 20%, sildijanin u količini 10%, a uz njih se u manjoj količini nalaze i izosilibin [148] te 2,3-dehidrosilibin [149]. Slika 9 pokazuje strukturnu formulu silibina.



Slika 9 Strukturna formula silibina [150]

#### **3.1.6.4.1 Mehanizam djelovanja i učinak na kožu**

Na zdravlje kože silimarin djeluje antioksidacijski, protuupalno i antiapoptotički. Iako nema kliničkih studija koje pokazuju učinak silimarina na kožu, smatra se da on pokazuje brojne pozitivne učinke, a to dokazuju studije *in vitro*.

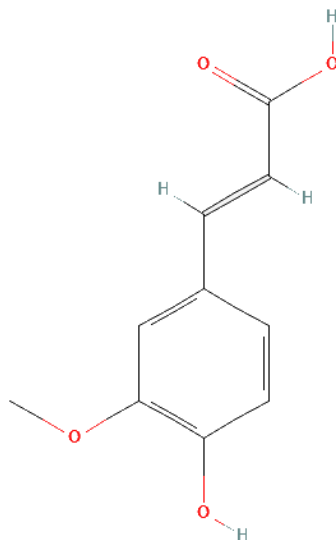
*In vitro* studijama zaključeno je da silimarin (izosilibin i sildijanin) sprječava smanjenje koncentracije glutationa, nastanak slobodnih radikala, prekide lanca molekule DNA i aktivaciju kaspaze-3 te tako iskazuju svoj antioksidacijski potencijal [149]. Djeluje i antiapoptotički utječući na smanjenu količinu oštećenja stanica inhibicijom nastanka CPD te popravkom UVB inducirano oštećenja DNA, povećanjem ekspresije gena za popravak nukleotidne ekscizije [151]. Silibin potiče stvaranje slobodnih radikala u endoplazmatskom retikulumu stanice i time potiče njihovu brzu eliminaciju prije njihove maligne transformacije [152]. Za fotozaštitu važan je također p53 signalni put čijim pojačanjem i ekspresijom DNA GADD45 $\alpha$ , proteina inducirano oštećenjem, silimarin štiti od UVB inducirano fotooštećenja. GADD45 $\alpha$  je transkripcijski faktor, posredovan s p53, koji regulira apoptozu, staničnu proliferaciju i popravak DNA [148, 152].

Silimarin inhibira UVB zračenjem inducirano stvaranje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i ekspresiju iNOS i COX-2 [33]. Koži signalne putove JNK1/2, ERK1/2, MAPK/p38 i Akt tijekom UV inducirane mitogeneze te sprječava oštećenje kože. Upalu silimarin narušava aktivacijom NF- $\kappa$ B i AP-1 potičući regulaciju mRNA interleukina IL-8 koji štiti od UVB nastalog oštećenja. UV inducirano apoptozu silimarin sprječava narušavanjem aktivnosti kaspaze-3 i -8 [148].

#### **3.1.6.5 Paprat *Polipodium leucotomos***

*Polipodium leucotomos* je paprat iz centralne Amerike. Ekstrakt lišća te paprati dolazi pod zaštićenim imenom Fernblock<sup>R</sup> kao standardizirani vodeni ekstrakt [2, 11], a pokazuje antioksidacijski i fotozaštitni učinak [11]. Polifenoli prisutni u ekstraktu su 4-hidroksibenzojeva kiselina, 3,4-dihidroksibenzojeva kiselina (protokatehuinska kiselina), 4-hidroksi-3-metoksibenzojeva kiselina (vanilična kiselina), 3,4-dihidroksicinamična kiselina (kafeična kiselina), 4-hidroksicinamična kiselina (p-humarinska kiselina), 3-metoksi-4-hidroksicinamična kiselina (ferulična kiselina), 4-hidroksicinamolkvinična kiselina te

izomeri klorogenične kiseline. Ferulična i kafeična kiselina najpotentniji su antioksidansi iz sastava [2]. Strukturna formula ferulične kiseline prikazana je na slici 10.



Slika 10 Strukturna formula ferulične kiseline [153]

### 3.1.6.5.1 Mehanizam djelovanja

Ekstrakt Fernblock<sup>R</sup> bogat je polifenolima, a iskazuje antioksidacijski, protuupalni, imunomodulatorni učinak i supresivni učinak na rast tumora [2].

*Polipodium leucotomos* pojačava učinak endogenog antioksidacijskog sustava. Neutralizira O<sub>2</sub><sup>·-</sup>, OH<sup>·</sup> i lipidne ROO<sup>·</sup> nastale u koži nakon izlaganja UV zračenju. Većina tradicionalnih antioksidansa poput vitamina C, E, karotenoida ne pokazuju kapacitet hvatanja O<sub>2</sub><sup>·-</sup> stoga je ta sposobnost prednost paprati *Polipodium leucotomos*. Osim antioksidacijskog učinka, paprat sprječava fotooštećenja i kancerogenezu ubrzavajući popravak DNA i modulirajući upalne i imunosne odgovore [2]. Ekstrakt paprati pokazuje učinak odgode karcinoma kože modulirajući ekspresiju molekula, transkripcijskih faktora i ekspresije gena uključenih u fotokancerogenezu. Također, paprat smanjuje broj ciklin-D1 i PCNA pozitivnih epidermalnih stanica nastalih UV zračenjem 0.

Rezultati dobiveni *in vitro* pokazali su da ekstrakt paprati *Polipodium leucotomos* inhibira fotoizomerizaciju *trans*-urokanske kiseline i sprječava degradaciju stanice u prisustvu oksidansa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i TiO<sub>2</sub> te sprječava smrt stanice. Također, ekstrakt paprati održava broj protuupalnih Langerhansovih stanica. Paprat je pokazala i inhibitorni učinak na ekspresiju citokina TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2 te značajno



povećanje koncentracija protuupalnog IL-10 [154, 155]. Rezultati studija pokazali su i smanjenje aktivnosti MMP-1, MMP-2, MMP-3 i MMP-9, koncentracije TIMP, stimulirana je ekspresija TGF- $\beta$  i stimulirana je sinteza kolagena tipa I [156]. Utvrdilo se da ekstrakt paprati sprječava i ekspresiju katepsina K, proteaze sa snažnom kolagenolitičkom aktivnošću te da sprječava promjene u ekspresiji sastavnica izvanstaničnog matriksa fibrilina 1, fibrilina 2 i elastina [157]. Inhibira signalni put NF $\kappa$ B i transkripciju AP-1, što pokazuje njegovu antioksidacijsku i protuupalnu ulogu. Stoga, ova paprat pokazuje učinak na preživljavanje stanice, smanjuje upalu i eritem [154].

Studija *in vivo* pokazala je povišene vrijednosti glutation-S-transferaze, i katalaze, a smanjene vrijednosti oksidiranog glutationa, glutation peroksidaze, glutation reduktaze. Primijećena je i inhibicija pada broja Lanherhansovih stanica. Autori su, prema rezultatima studije, zaključili da paprat ima antioksidacijska i imunozaštitna svojstva [158]. Utvrđeni su fotozaštitni učinci paprati povećanom aktivnošću p53 gena, utvrđena je smanjena upala inhibicijom COX-2, povećan popravak CPD i 8-OHdG te smanjeno oksidacijsko oštećenje DNA [159].

*Mohammad i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem su 24 ispitanika ozračili vidljivom svjetlosti te su nakon sedam dana ispitanicima suplementirali ekstrakt *Polipodium leucotomos* u dnevnoj dozi od 480 mg kroz 28 dana, a zatim su ponovo izloženi zračenju. Kliničkom evaluacijom zaključeno je da su svi ispitanici nakon izlaganja zračenju odmah razvili tamnjenje kože, a neki su razvili odgođeno tamnjenje kože koje je bilo blago i nije bilo stalno izraženo. *Polipodium leucotomos* pokazuje pozitivne učinke na nuspojave vidljivog zračenja u vidu smanjenja pigmentacija izazvanih zračenjem i slabijim manifestiranjem pigmentacija nakon ponovnog zračenja. Imunohistokemijskom obradom opaženo je osjetno smanjenje COX-2 i markera oštećenja stanice poput matriksnih metaloproteinaza. Vidljiv je osjetan trend u smanjenju razina MMP-2 te blaži trend u smanjenju MMP-1, MMP-9 te Bcl-2. Iz tih rezultata autori studije su dobili potvrdu antioksidacijskog i protuupalnog učinka paprati *Polipodium leucotomos* [160].

#### **3.1.6.5.1.1 Učinak na eritem i vidljive znakove fotooštećenja kože**

Učinkovitost suplementacije paprati *Polipodium leucotomos* na pojavnost i intenzitet fotooštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

U kliničkom ispitivanju kojeg su osmislili *Kohli i sur.* ispitanici su dobivali ekstrakt paprati *Polipodium leucotomos* u dozi od 240 mg sat vremena i dva sata nakon zračenja. U studiji je sudjelovalo 22 ispitanika. Ekstrakt paprati suplementiran je tri dana nakon inicijalnog zračenja vidljivim i UV zračenjem te se nakon suplementacije zračenje ponovilo. Vidljivo je smanjenje intenziteta eritema. Histološkom obradom zaključeno je da su nakon suplementacije *Polipodium leucotomos* značajno smanjeni markeri štetnosti zračenja poput oštećenih stanica, CPD, COX-2, ciklin D1 i Ki-67. Dakle, *Polipodium leucotomos* pokazuje protuupalne i kemopreventivna svojstva [161].

Kliničkim, randomiziranim, slijepim, kontroliranim ispitivanjem su *Villa i sur.* suplementirali ispitanicima *Polipodium leucotomos* u dozi 240 mg 8 sati i 2 sata prije izlaganja UVA zračenju. U studiji je sudjelovalo 10 ispitanika. Studija je primijetila kod ispitanika blago smanjenje fotooštećenja i markera fotostarenja manifestiranog kao kromosomske delecije mitohondrijske DNA [162].

*Middlekamp-Hup i sur.* su u kliničkom ispitivanju na 9 sudionika, sudionicima suplementirali dozu *Polipodium leucotomos* (7,5 mg/kg) 72 sata nakon izlaganja zračenju te su nakon uzimanja doze opet izloženi UV zračenju. Sljedeći dan se paprat ponovo suplementirala, a nakon suplementacije ispitanici su bili izloženi UV zračenju. Rezultati koji su dobiveni ovom studijom bili su značajno smanjenje eritema, manje oštećenih stanica, smanjena koncentracija CPD, proliferiranih epidermalnih stanica i dermalnog mastocita te očuvanje Langerhansovih stanica. Stoga možemo zaključiti da paprat *Polipodium leucotomos* pokazuje antioksidacijsku, imunomodulatornu i antitumorsku aktivnost [163].

*Nestor i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje. U svakoj skupini sudjelovalo je 20 ispitanika. Ispitanici su kroz 60 dana suplementirali ekstrakt paprati *Polipodium leucotomos* u dozi 240 mg dva puta dnevno. Zaključili su da ovaj ekstrakt smanjuje oštećenje izazvano UV zračenjem na temelju rezultata koji pokazuju povećanje parametra MED i smanjenje eritema izazvanog UV zračenjem [164].

Klinička, randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana studija koju su proveli *Goh i sur.* uključila je 40 ispitanika s melazmom koji su kroz 12 tjedana uz suplementaciju ekstrakta *Polipodium leucotomos* u dnevnoj dozi 480 mg ili placebo koristili topikalni pripravak s 4% hidrokinaona navečer i

pripravak sa zaštitnim faktorom SPF 50+ preko dana. U skupini koja je suplementirala *Polipodium leucotomos* pokazalo se znatno smanjenje parametara mMASI i MelasQol u odnosu na skupinu koja je koristila samo topikalni pripravak. Značajno poboljšanje mMASI i MelasQol parametara uočeno je već nakon mjesec dana primjene te su dobiveni rezultati pokazali ubrzano smanjenje pigmentacije, a rezultati MelasQol pokazali su četiri puta veće smanjenje u odnosu na početak studije [165].

*Emanuele i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem je jednoj skupini ispitanika suplementirana kombinacija fitonutrijenata *Polipodium leucotomos* i šipka u dnevnoj dozi 480 mg, a drugoj skupini samo *Polipodium leucotomos* u dnevnoj dozi 480 mg kroz 3 mjeseca. U svakoj skupini je sudjelovalo 20 ispitanika. Rezultati studije pokazali su povećanu elastičnost i hidrataciju kože te smanjen TEWL u obje skupine. Eritem je bio smanjen u obje skupine, ali je u skupini koja je uzimala kombinaciju fitonutrijenata značajnije smanjen. Kombinacija fitonutrijenata pokazala je smanjenje u indeksu melanina, dok primjena samo paprati *Polipodium leucotomos* nije pokazala taj rezultat [166].

Na 28 ispitanika s polimorfnom erupcijom svjetlosti studiju su proveli *Caccialanza i sur.* u kliničkom ispitivanju u kojem je ispitanicima suplementiran ekstrakt paprati *Polipodium leucotomos* u dnevnoj dozi od 480 mg 15 dana prije izlaganja sunčevom zračenju i tijekom perioda izlaganja suncu kroz ljetni period godine. Rezultati su pokazali poboljšanje simptoma bolesti i normalizaciju odgovora na izlaganje suncu [167].

Klinička, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana studija koju su proveli *Suzuki i sur.* uključivala je 16 ispitanika. Ispitanici su suplementirali kapsule ferulične kiseline u dozi od 200 mg dnevno kroz 2 tjedna. Unos ferulične kiseline značajno je smanjio TEWL i povećao hidrataciju *stratum corneum*. Stoga, autori su zaključili da ferulična kiselina jača funkciju zaštitne kožne barijere [168].

Oralno primijenjen ekstrakt paprati sprječava nastanak crvenila na koži izloženoj UV zračenju [2].

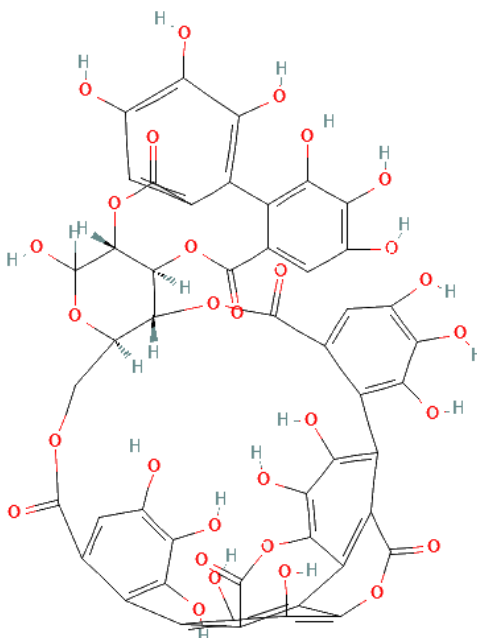
### **3.1.6.5.2 Doziranje**

Klinička ispitivanja pokazuju odličan sigurnosni profil u dugotrajnoj primjeni i učinak u smanjenju oštećenja kože izazvanog UV zračenjem u dnevnoj dozi 480 mg kroz 28 dana do 3 mjeseca, što je ekvivalentno dozi od 7,5 mg/kg dnevno za osobu od oko 65 kg [160-166]. Studija s jednom od

najpotentnijih sastavnica feruličnom kiselinom je pokazala fotozaštitni učinak ferulične kiseline u dnevnoj dozi od 200 mg kroz 2 tjedna suplementacije [168].

### 3.1.6.6 Nar

Ekstrakt ploda nara (*Punica Granatum*) pokazuje protuupalno, antioksidacijsko i antitumorsko djelovanje [11, 169]. Sadrži puničnu kiselinu, a snažan antioksidacijski učinak proizlazi iz polifenolnog sastava koji uključuje antocijanidine, katehine i tanine [2, 6]. Plod nara u najvećoj količini sadrži dvije grupe antocijanina (cijanidine i delphinidine) i tanine (punicalin, pedunculagin, punicalagin) 0. Te polifenolne sastavnice nalaze se u svim dijelovima ploda, ali u najvećim koncentracijama nalazimo ih u kori i soku [170]. Slika 11 pokazuje strukturnu formulu punicalagina.



Slika 11 Strukturna formula punicalagina [171]

#### 3.1.6.6.1 Mehanizam djelovanja

Zbog visokog sadržaja polifenolnih sastavnica, nar pokazuje jak antioksidacijski i protuupalni učinak [170]. Fotozaštitni učinak pokazuje inhibicijom UV zračenjem stimilirane sinteze slobodnih radikala, inhibicijom oštećenja DNA, proliferacije stanice te sprječavanjem nastanka eritema [11].

Prema studijama *in vitro* ulje sjemenki nara pokazalo je učinak na zaštitu stanične DNA od UVB zračenjem izazvanog oštećenja i smanjenu sekreciju citokina IL-8, koji posljedično inhibira aktivaciju matriksnih metaloproteinaza [170]. Ekstrakt, sok i ulje nara pokazali su prevenciju oštećenja kože

inhibicijom UV zračenjem induciranih matriksnih metaloproteinaza [6, 169]. Studija je pokazala da nar ubrzava mehanizme popravka DNA i sprječava proliferaciju oštećenih stanica, sprječavajući ih da uđu u stanični ciklus i time stanicama omogućava dodatno vrijeme za popravak ili im omogućava ulazak u apoptozu. Pokazalo se, također, da nar inhibira UV zračenjem potaknuto povećanje koncentracije abnormalnih vlakana tropoelastina, poništava UV zračenjem potaknutu ekspresiju matriksnih metaloproteinaza te sprječava fosforilaciju c-jun i c-fos proteina, a time i aktivaciju AP-1 i smanjenu ekspresiju matriksnih metaloproteinaza [169].

Studije *in vivo* pokazale su da koncentrirani prah soka nara značajno smanjuje fotostarenjem nastale bore, a povećana je hidratacija kože, stvaranje kolagena tipa I i hijaluronske kiseline. Smanjena je ekspresija matriksnih metaloproteinaza te Nox2. Suplementacijom dolazi i do inhibicije proupalnih citokina IL-1 $\beta$  i iNOS, UVB zračenjem izazvane ekspresije proteina za COX-2 te povećanog stvaranja protuupalnog citokina IL-10 [172, 173]. Inhibirano je i UV zračenjem izazvano smanjenje glutaciona i povećanje MDA. Autori su zaključili da nar pokazuje značajne zaštitne učinke od UVB zračenjem izazvanog fotostarenja kroz antiapoptotičko, antioksidacijsko i protuupalno djelovanje, inhibiciju matriksnih metaloproteinaza te povećanu sintezu struktura izvanstaničnog matriksa [172]. Nar sprječava UVB zračenjem potaknutu nuklearnu translokaciju i fosforilaciju NF- $\kappa$ B te fosforilaciju MAPK i c-Jun. Inhibirani su nuklearni antigen proliferirajućih stanica i ciklin D1 [173].

#### **3.1.6.6.1.1 Učinak na eritem i vidljive znakove fotooštećenja kože**

Učinkovitost suplementacije narom na pojavnost i intenzitet fotooštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

Kliničko, randomizirano, placebo kontrolirano ispitivanje proveli su *Chan i sur.* u kojem su ispitanicima suplementirali napitak ekstrakta nara fermentiranog s probioticima jednom dnevno kroz 8 tjedana. Napitak je pokazao veću hidrataciju kože, manju pigmentiranost inhibicijom tirozinaze i veću gustoću kolagena. Pokazala se i značajna sposobnost hvatanja slobodnih radikala, dakle antioksidacijski učinak ovog ekstrakta [174].

*Li i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem je kroz 12 tjedana ispitanicima suplementiran ekstrakt ili sok nara. U studiji je sudjelovalo 74 ispitanika. U obje skupine je utvrđeno značajno povećanje vrijednosti MED [175].

*Henning i sur.* proveli su kliničku, randomiziranu, placebo kontroliranu studiju u kojoj su ispitanici konzumirali 1000 mg ekstrakta nara ili oko 230 ml šipkovog soka kroz 12 tjedana. U studiji je sudjelovalo 74 ispitanika. MED vrijednost kože ispitanika značajno se povisila nakon suplementacije u obje skupine. Uočeno je blago smanjenje u stvaranju melanina u epidermalnim melanocitima [176].

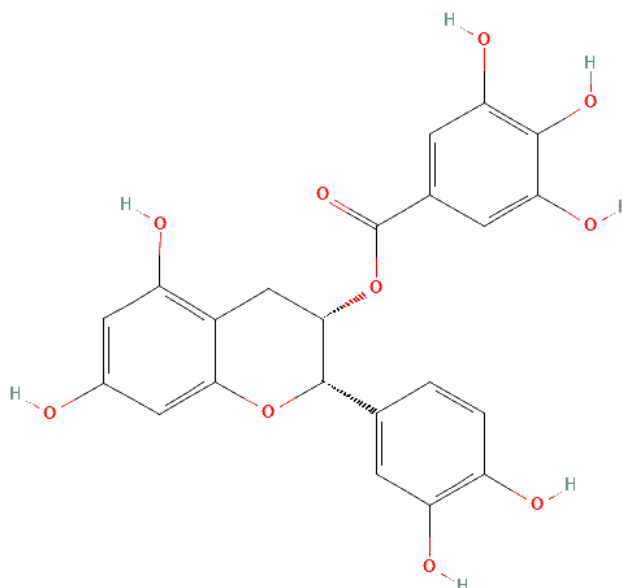
Kliničko, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje proveli su *Kasai i sur.* u kojem su ispitanici kroz 4 tjedna konzumirali ekstrakt nara bogat elaginskom kiselinom. U studiji je sudjelovalo 13 ispitanika. Jedna skupina je uzimala dozu elaginske kiseline od 200 mg/dan, a druga skupina od 100 mg/dan te je provedeno UV zračenje. Rezultati ispitanika iz obje skupine pokazali su učinak ekstrakta na povlačenje blažih eritema i pigmentacija izazvanih UV zračenjem te na bolju hidrataciju kože [177].

#### **3.1.6.6.2 Doziranje**

Klinička studija u kojoj su ispitanici koristili 1000 mg ekstrakta nara kroz 12 tjedana pokazala je značajno smanjenje eritema te blago smanjenje u nastanku melanina [176].

#### **3.1.6.7 Zeleni čaj**

Čaj (*Camellia sinensis*), biljka je iz porodice Theaceae. Zeleni čaj dobivamo od minimalno procesiranih zrelih listova [10]. Sadrži smjesu polifenola odgovornih za njegov fotozaštitni učinak. Prisutni katehini, polifenoli koji se nalaze u zelenom čaju, su epigalokatehin-3-galat (40%), epikatehin-3-galat, epikatehin i epigalokatehin [2]. Epigalokatehin-3-galat najučinkovitiji je u zaštiti od upalnih i kancerogenih odgovora [10]. Strukturna formula epikatehin-3-galata prikazana je na slici 12.



Slika 12 Strukturna formula epikatehin-3-galata [178]

### 3.1.6.7.1 Mehanizam djelovanja

Polifenoli zelenog čaja odgovorni su za njegov antioksidacijski i fotozaštitni učinak na vidljive znakove fotostarenja kože. Osim antioksidacijskog učinka, katehini djeluju i modulirajuće na upalni i imunomodulatorni odgovor, a ulogu imaju i u obrani organizma od razvoja i progresije tumora.

Katehini zelenog čaja učinkoviti su hvatači slobodnih radikala [2]. Epigalokatehin-3-galat, kao najjača aktivna supstanca u listu zelenog čaja, smanjuje oštećenje staničnih lipida slobodnim radikalima i inhibira enzime odgovorne za degradaciju kolagena [7]. Korištenjem zelenog čaja, na koži se uočava manji broj stanica opečenih suncem, a zaštićene su i epidermalne Langerhansove stanice od oštećenja izazvanog UV zračenjem [179].

Rezultati dobiveni *in vitro* pokazali su da je epigalokatehin-3-galat pokazuje sposobnost inhibicije UV zračenjem izazvanog stvaranja  $H_2O_2$  i oksidacijskog stresa te njime izazvanu fosforilaciju signalnog puta MAPK (ERK1/2, JNK i p38) [180]. Epigalokatehin-3-galat iz zelenog čaja djeluje i na fotostarenje sprječavajući aktivaciju upalnih transkripcijskih faktora AP-1 i NF- $\kappa$ B izazvanu UV zračenjem [2]. Utvrđeno je da se pod djelovanjem epigalokatehin-3-galata pojačano stvara IL-12. Utvrđeno je da se djelovanjem IL-12 sprječava UV zračenjem izazvana smrt stanice popravkom DNA. Važnost IL-12 u procesu popravka DNA potvrđena je i na ispitivanjima na normalnim ljudskim keratinocitima,

epidermoidnim stanicama karcinoma i ekvivalentima ljudske kože koji su tretirani epigalokatehin-3-galatom i UVB zračenjem [33]. Zaključilo se da epigalokatehin-3-galat povećava ekspresiju gena za prirodne faktore odgovorne za hidrataciju, a to su filagrin, transglutaminaza-1, hijaluron sintetaza-1 i hijaluron sintetaza-2, a primijećena je smanjena ekspresija hijaluronaze. Utvrđena je i smanjena aktivnost kaspaze-8 i kaspaze-3, što pokazuje preventivnu učinkovitost u sprječavanju apoptoze izazvane slobodnim radikalima [181].

Studije *in vivo* pokazale su smanjene vrijednosti markera upale (COX-2, prostaglandina E2, nuklearnog antigena proliferacije stanica i ciklina D1) i proupalnih citokina (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL1- $\beta$ 1). UV zračenjem izazvano stvaranje CPD popravilo se nakon suplementacije zelenim čajem, a autori zaključuju da je uz popravak nukleotidne ekscizije za to djelomično zaslužan i IL-12 [182, 183]. Zeleni čaj smanjio je ekspresiju MMP-2 i MMP-9 koje imaju važnu ulogu u rastu tumora i metastaziranju, a povećana je ekspresija tkivnog inhibitora matriksnih metaloproteinaza TIMP-1. Primijećena je i smanjena ekspresije klastera diferencijacije CD31 i vaskularnog endotelnog faktora rasta koji imaju važnu ulogu u angiogenezi i inhibiciji ekspresije nuklearnog antigena proliferacije stanice u tumorima. U tumorima je primijećena i veća koncentracija citotoksičnih CD8<sup>+</sup> T stanica, a tumorske stanice su pokazivale povećanu aktivaciju kaspaze-3 te veću apoptozu stanica tumora. Stoga, autori su zaključili da polifenoli zelenog čaja pozitivno utječu na biomarkere koji su uključeni UV zračenjem izazvanu kancerogenezu, a to je rezultat inhibicije angiogenih faktora i povećanja aktivnosti citotoksičnih T stanica u tumoru [184].

Kliničko, dvostruko slijepo, randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje proveli su *Megow i sur.* u kojem su ispitanici konzumirali dvije vrste 200 ml zelenog čaja tri puta dnevno kroz dva tjedna. U studiji je sudjelovalo 37 ispitanika. Zaključeno je da zeleni čaj nakon 14 dana značajno pojačava kapacitet hvatanja slobodnih radikala u ljudskoj koži [185].

*Rhodes i sur.* proveli su kliničku studiju u kojoj se ispitanicima suplementiralo 1350 mg ekstrakta zelenog čaja (koji sadrži 540 mg katehina) i 50 mg vitamina C (zbog stabilizacije katehina u crijevima) dnevno kroz 3 mjeseca. U studiji je sudjelovalo 16 ispitanika. Izloženi su UV zračenju prije i poslije perioda suplementacije. Studija je pokazala suprimiranu sintezu stvaranja eikozanoida 12-HETE u koži



inhibicijom lipooksigenaze te smanjenje intenziteta eritema u odnosu na početak suplementacije. 12-HETE može potaknuti dermalnu vazodilataciju i infiltraciju leukocita, a njegova inhibicija može doprinijeti smanjenju upale [186].

*Malhomme i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem je 10 ispitanika jednokratno konzumiralo 540 ml zelenog čaja. Iz krvi ispitanika izolirani su periferni leukociti te izloženi UV i vidljivom zračenju. Rezultati su pokazali značajno djelovanje zelenog čaja na smanjenje genotoksičnih učinaka i oštećenje molekule DNA. Autori smatraju da je to rezultat antioksidacijskih svojstava fenolnih komponenata koje učinkovito hvataju slobodne radikale [187].

#### **3.1.6.7.1.1 Učinak na eritem i vidljive znakove fotostarenja kože**

Učinkovitost suplementacije flavonoida zelenog čaja na pojavnost i intenzitet fotooštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

Flavonoidi zelenog čaja pokazuju fotozaštitni učinak na vidljive znakove fotostarenja kože. Smanjuju crvenilo kože nastalo UV zračenjem te povećavaju elastičnost, mekoću i debljinu kože [11, 179]. Zeleni čaj sprječava i UV zračenjem izazvano stvaranje bora te smanjuje gustoću dermalnih kolagenskih vlakana. Kožu čini elastičnijom, mekšom, gušćom i hidratiziranom [33].

*Heinrich i sur.* proveli su kliničko, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem je ispitanicima kroz 12 tjedana suplementiran napitak s polifenolima zelenog čaja koji je sadržavao 1402 mg ukupnih katehina te je nakon perioda suplementacije koža izložena UV zračenju. Napitak je u dnevnoj dozi sadržavao 100 mg epikatehina, 23.2 mg katehina, 2.4 mg galokatehina, 980 mg epigalokatehingalata, 238 mg epikatehingalata, 43.6 mg galokatehingalata, 8 mg katehingalata, 6 mg epogalokatehina i 119 mg askorbinske kiseline. 60 ispitanika randomizirano je u ispitivanu ili kontrolnu skupinu. UV zračenjem izazvan eritem značajno se smanjio. Koža je postala elastičnija, gušća, mekša, glađa i hidratizirana. Povećana je prokrvljenost kože i zasićenost krvi kisikom. Nakon 12 tjedana konzumacije izmjerene su značajno povećane vrijednosti epigalokatehingalata, epigalokatehina i epikatehingalata u odnosu na kontrolnu skupinu [188].

*Janjua i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanicima suplementirali 250 mg polifenola zelenog čaja (70% katehina) dva dnevno kroz 24 mjeseca. U studiji je sudjelovalo 56 ispitanika. Rezultati su pokazali značajno poboljšanje UV zračenjem oštećene kože, eritema i teleangiektazije [189].

Kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje proveli su *Charoenchon i sur.* u kojem su ispitanicima suplementirali 540 mg ekstrakta zelenog čaja (180 mg katehina) i 25 mg vitamina C dva puta dnevno kroz 12 tjedana, a zatim su izloženi UV zračenju. U studiji je sudjelovalo 50 ispitanika. Rezultati su pokazali poništenu promjenu komponente elastičnih vlakana fibulina 5 kod ispitanika koji su suplementirali zeleni čaj. Fibulin 5 odgovoran je za regulaciju organizacije vlakana u fibroblastima [190].

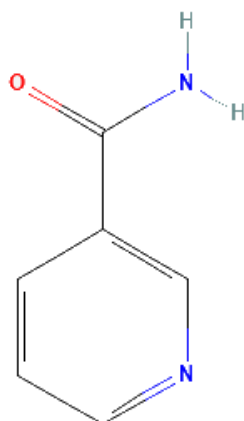
### **3.1.6.7.2 Doziranje**

U kliničkim studijama primjenjivane dnevne doze katehina zelenog čaja bile su 360 – 1402 mg [185, 186, 189, 190]. Istraživanje u kojem je dnevno konzumirana 1 L zelenog čaja sadržaja 1402 mg ukupnih flavanola (od čega 980 mg epigalokatehin-3-galata) kroz 12 tjedana pokazuje osjetno smanjenje UV zračenjem nastalog eritema, transepidermalni gubitak vlage i viskoelastičnost kože te poboljšanje u hidrataciji, mekoći, elastičnosti i gustoći kože [75].

## **3.1.7 Vitamini**

### **3.1.7.1 Vitamin B<sub>3</sub>**

Nikotinamid, oblik vitamina B<sub>3</sub>, prekursor je nikotinamid adenin dinukleotida (NAD<sup>+</sup>), esencijalnog kofaktora u stvaranju ATP-a, pa stoga ima važnu ulogu u metabolizmu stanične energije [191]. Hranom se unosi iz jetre, mesa, kvasca, mahunarki, orašastih plodova, zelenog lisnatog povrća i žitarica [2]. Slika 13 prikazuje strukturnu formulu nikotinamida.



Slika 13 Strukturna formula nikotinamida [192]

### 3.1.7.1.1 Mehanizam djelovanja

Nikotinamid sprječava UV zračenjem izazvanu iscrpljenost zaliha ATP-a u keratinocitima i time povećava količinu stanične energije. Adekvatna količina ATP-a bitna je za dinamiku strukture kromatina i popravak DNA koji može biti narušen UV zračenjem pri čemu dolazi do iscrpljenja količina NAD i stanične energije.

UV zračenje, osim što oštećuje DNA, smanjuje količinu dostupne stanične energije blokirajući glikolizu i smanjujući količinu staničnog ATP-a [191]. Nikotinamid je jedini supstrat i inhibitor nuklearnog enzima poli-ADP-riboza polimeraza 1 (PARP-1). PARP-1 aktiviran je UV zračenjem i pokazuje brojna svojstva značajna za stanicu poput popravka DNA, stabilnosti genoma i regulacije upalnih citokina, kemokina, adhezijskih molekula i medijatora upale [43, 20]. Enzim PARP-1 smanjuje količinu staničnog NAD<sup>+</sup> smanjujući unutarstanične zalihe energije. Nikotinamid sprječava to smanjenje energije inhibirajući učinak PARP-1 na blokiranje glikolize i time povećava razine ATP-a u keratinocitima [34] čime štiti kožu od imunosupresije izazvane UV zračenjem, potiče popravak DNA i smanjuje rizik od raka kože [43].

Autori *in vitro* studija zaključili su da UV zračenjem izazvano oštećenje aktivira PARP-1 koji smanjuje staničnu koncentraciju NAD te izaziva prekid glikolize i smanjenje količine ATP-a. To smanjenje staničnog ATP-a može narušiti energetski ovisan proces popravka DNA. Dakle, UV zračenjem izazvana

izmjena staničnih energetske putova može biti ključni mehanizam u nastanku imunosupresije izazvane oštećenjem DNA. Nikotinamid kao PARP-1 inhibitor može napuniti stanični NAD i spriječiti prekid glikolize te tako zaštititi stanicu od smanjenja ATP-a [193]. Učinak nikotinamida je i protuupalan što se pokazalo smanjenim stvaranjem proupalnih citokina (IL-6, MCP-1, monocitnog kemovezujućeg proteina 1 i TNF- $\alpha$ ) nakon izlaganja UV zračenju [194]. Istraživanje pokazuje da stimuliranim UV zračenjem nikotinamid povećava i ubrzava popravak DNA mehanizmom popravka nukleotidne ekscizije i smanjuje količinu nastalih fotolezija CPD i 8-OHdG. Dakle, nikotinamid pospješuje dva puta popravak oštećenja DNA izazvanih UV zračenjem [195, 196]. Nikotinamid također inhibira aktivnost sirtuina, enzima ovisnih od NAD koji su značajni za stanični metabolizam, održavanje energije, starenje i u staničnom odgovoru na vanjski stres [2, 191].

Sirtuini imaju proupalni učinak te ih se zbog toga povezuje s ranim stadijima raka kože. Nikotinamid djeluje na transkripcijske faktore, uključujući p53 te doprinosi preživljavanju stanice. Ekspresiju sirtuina potiče UV zračenje [2]. Stoga, inhibicija sirtuina nikotinamidom i posljedično smanjenje upale i metabolizma tumora, dodatan je potencijal nikotinamida u prevenciji tumora [191].

*In vitro* studija pokazala je progresivno povećanu ekspresiju sirtuina u epidermoidnim stanicama karcinoma, a fotooštećenja doprinose dinamičkim promjenama u ekspresiji sirtuina, pri čemu se pojačava ekspresija mRNA sirtuina 1 (SIRT1) i SIRT4. Rezultati studije pokazali su da restrikcija niacina i posljedično smanjenje NAD<sup>+</sup>, rezultira povećanjem acetiliranih proteina, pojačanim djelovanjem SIRT2 i SIRT4, oštećenjem DNA, promjenama u SIRT odgovorima na fotooštećenje, sprječavanjem aktivacije PARP što izaziva fotooštećenje i povećanu osjetljivost na fotooštećenje. Autori zaključuju da je pretvorba niacina u NAD<sup>+</sup> ključan faktor otpora od fotooštećenja [197].

Smatra se da je sposobnost nikotinamida u prevenciji incidencije melanoma i tumora nemelanomskog tipa rezultat njegovog učinka na ubrzanje popravka DNA i učinka na jačanje imunološkog sustava [34]. Nikotinamid pokazuje učinak zaštite kože od UV zračenjem izazvane imunosupresije te štiti kožu od raka kože nemelanomskog tipa [11].

*Thanos i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, unakrsno, placebo kontrolirano ispitivanje na ispitanicima koji su uzimali 500 mg nikotinamida dnevno kroz tjedan dana i bili izloženi topikalnoj fotodinamičkoj terapiji. U studiji je sudjelovalo ukupno 30 ispitanika. Nikotinamid je osjetno smanjio značajnu imunosupresiju (za 66% u odnosu na placebo) koju je izazvala fotodinamička terapija [198].

*Yiasemides i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, unakrsno, placebo kontrolirano ispitivanje uz izlaganje UV zračenju u kojem je sudjelovalo 61 ispitanik. Prvih tjedan dana ispitivana skupina suplementirala je 500 mg nikotinamida jednom dnevno, nakon čega je slijedio period od 4 tjedna bez suplementacije. Nakon tog perioda ispitivana skupina dobila je placebo, a placebo skupina suplementirala je 500 mg nikotinamida jedan ili tri puta dnevno kroz tjedan dana. Rezultati su pokazali da se oralno primijenjen nikotinamid u dnevnim dozama od 500 i 1500 mg jako dobro podnosi i da značajno smanjuje imunosupresiju [199].

*Philips i sur.* proveli su studiju na UVA zračenjem ozračenim dermalnim fibroblastima tretiranim nikotinamidom značajno povećava ekspresiju elastina, fibrilina-1 i fibrilina-2 u ozračenim UV zračenjem i neozračenim fibroblastima te direktno inhibira aktivnost proteolitičkih enzima izvanstaničnog matriksa MMP i elastaze [200].

Upala i oštećenje kože mogu izazvati epidermalnu proliferaciju i nastanak karcinoma. Klinička ispitivanja pokazuju da nikotinamid djeluje kemopreventivno na stvaranje aktiničkih keratoza i karcinoma kože kod visokorizičnih pacijenata [34, 191].

Kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje proveli su *Chen i sur.* u kojem su visokorizičnim pacijentima, koji su u zadnjih pet godina imali barem dva tumora kože nemelanomskog tipa, suplementirali 500 mg nikotinamida dva puta dnevno kroz 12 mjeseci. U studiji je sudjelovalo sveukupno 386 ispitanika podjednako raspoređenih u ispitivanu i kontrolnu skupinu. Rezultati su pokazali smanjenje pojavljivanja tumora nemelanomskog tipa, karcinoma bazalnih stanica, skvamoznih stanica i aktiničkih keratoza u skupini koja je suplementirala nikotinamid. Autori su

zaključili da je oralna primjena nikotinamida sigurna i efektivna u smanjivanju incidencija novih tumora kod visokorizičnih pacijenata [201].

*Drago i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje u kojem je 38 transplantiranih ispitanika s jednom ili više aktiničkih keratoza primalo 500 mg nikotinamida jednom dnevno kroz 6 mjeseci. U skupini koja je suplementirala nikotinamid rezultati su pokazali značajno smanjenje veličine aktiničkih keratoza, dio pacijenata pokazao je potpunu kliničku regresiju i niti jedna nova aktinička keratoza nije nastala. Veći dio ispitanika placebo skupine razvio je nove aktiničke keratoze ili su se povećale postojeće, a dio ih se razvio u karcinom skvamoznih stanica. Dakle, autori su zaključili da je nikotinamid učinkovit u sprječavanju i tretiranju aktiničkih keratoza [202].

*Liu i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanicima s tumorom kože nemelanomskog tipa i ekspresijom HIF-1 $\alpha$  (faktor 1 $\alpha$  inducibilan hipoksijom) i p53 suplementirali 500 mg nikotinamida jednom dnevno kroz tjedan dana. Rezultati ispitivanja pokazali su značajno smanjenje mRNA i proteina HIF-1 $\alpha$  i p53 [203].

#### **3.1.7.1.1.1 Učinak na vidljive znakove fotooštećenja kože**

Učinkovitost suplementacije nikotinamidom na pojavnost i intenzitet fotooštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

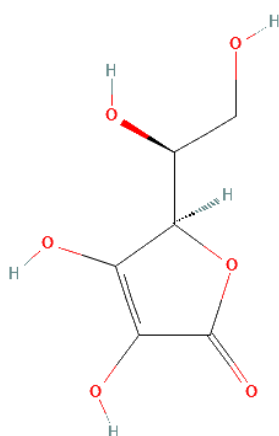
Oralnom primjenom nikotinamida dolazi do smanjenja transepidermalnog gubitka vode [34]. *Chen i sur.* proveli su kliničku, placebom kontroliranu studiju u kojem je ispitanicima suplementirano 500 mg nikotinamida dva puta dnevno kroz 12 mjeseci. U studiji je sudjelovalo 292 ispitanika. Rezultati su pokazali dobru podnošljivost nikotinamida i značajno smanjenje TEWL (za 6% na čelu i za 8% na udovima u odnosu na placebo nakon 12 mjeseci), stoga autori smatraju da nikotinamid ima potencijal u jačanju barijerne funkcije kože [204].

#### **3.1.7.1.2 Doziranje**

Klinička ispitivanja pokazuju da oralna suplementacija nikotinamida u dozama 500 – 1500 mg/dan, kroz 7 dana do 12 mjeseci, smanjuje UV zračenjem induciranu imunosupresiju kože te djeluje fotozaštitno [198, 199, 201-204].

### 3.1.7.2 Vitamin C

Vitamin C (askorbinska kiselina) je mikronutrijent koji čine dva osnovna oblika – reducirani oblik (L-askorbinska kiselina) i oksidirani oblik (dehidroaskorbinska kiselina). Ne može se sintetizirati u ljudskom organizmu, pa ga je potrebno unositi u organizam suplementacijom. Topljiv je u vodi, među najzastupljenijim je antioksidansima u koži i kofaktor u brojnim enzimatskim reakcijama [5, 20]. Prirodni izvori vitamina C su šipak, ribiz, crvena i zelena paprika, rajčica, kupus, zeleno lisnato povrće te citrusi [5, 7]. Slika 14 prikazuje strukturu askorbinske kiseline.



Slika 14 Strukturna formula askorbinske kiseline [205]

#### 3.1.7.2.1 Mehanizam djelovanja

Na zaštitu kože od UV zračenja, vitamin C djeluje štiteći kožu od oksidacijskog stresa neutralizacijom slobodnih radikala pri čemu se njegova koncentracija u koži smanjuje [20]. Antioksidacijski djeluje hvatajući slobodne radikale i regeneracijom vitamina E iz njegovog radikalnog oblika [206].

Vitamin C sudjeluje u reakcijama sa slobodnim radikalima donirajući im elektron. Time dolazi do oksidacije vitamina C pri čemu nastaje semidehidroaskorbinska kiselina, stabilni i ne reaktivni radikal koji se može reducirati ili daljnjom reakcijom stvoriti dehidroaskorbinsku kiselinu [20]. Dehidroaskorbinska kiselina pod utjecajem enzima se ponovo pretvara u vitamin C [7].

Studija *in vitro* pokazala je poboljšanje u epidermalnoj barijernoj funkciji i TEWL, povećanje mRNA filagrina te koncentracije profilagrina i filagrina što pozitivno utječe na diferencijaciju keratinocita i organizaciju barijernih lipida [207].

Antioksidacijska učinkovitost suplementacije vitaminom C istražena je u nekoliko kliničkih studija.

*Lauer i sur.* proveli su kliničko placebo kontrolirano ispitivanje u kojem je jedna skupina ispitanika uzimala 100 mg vitamina C dnevno, a druga skupina 180 mg vitamina C dnevno kroz 4 tjedna. U studiji je sudjelovalo 33 ispitanika. Rezultati dobiveni elektronskom paramagnetskom rezonantnom spektroskopijom pokazali su značajnu aktivnost hvatanja slobodnih radikala u obje skupine. Autori su zaključili da oralno primijenjen vitamin C povećava aktivnost hvatanja slobodnih radikala u koži, a ta aktivnost se pojačava s povećanjem doze vitamina C [208].

*Placzek i sur.* proveli su kliničku studiju u kojoj su ispitanici suplementirali 1 g askorbinske kiseline i 500 I.U.  $\alpha$ -tokoferola dnevno kroz 3 mjeseca. U studiji je sudjelovalo 18 ispitanika. Rezultati studije pokazali su značajno smanjenje eritema izazvanog UV zračenjem, a detekcija timinskih dimera korištenjem specifičnih antitijela pokazala je značajno smanjenje njihovog povećanog broja koji je bio rezultat UV zračenja. Autori su zaključili da ova kombinacija antioksidansa štiti kožu od oštećenja DNA izazvanog UV zračenjem [209].

U ispitivanjima korištenjem dnevne doze vitamina C od 2-3 g 7-50 dana prije izlaganje zračenju, opažena je njegova povećana koncentracija u keratinocitima. Smatra se da je njegova glavna antioksidacijska uloga nakon oralne primjene ipak sinergistički učinak s vitaminom E [50].

### **3.1.7.2 Doziranje**

U kliničkim ispitivanjima korištene doze vitamina C bile su 100 – 3000 mg dnevno kroz 7 dana do 12 tjedana [206, 208-212].

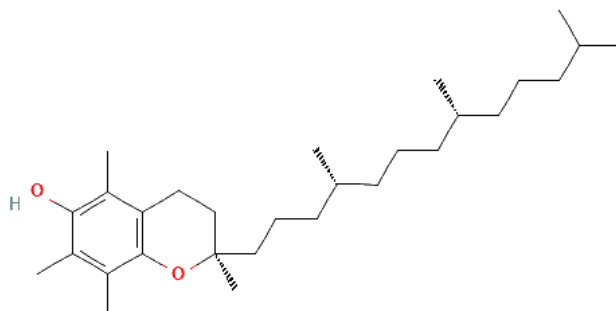
### **3.1.7.3 Vitamin E**

Vitamin E, esencijalni je nutrijent koji zbog svojih antioksidacijskih svojstava ima brojne pozitivne učinke na kožu. Koncentracija vitamina E koja se nalazi u koži ovisi o njegovom oralnom unosu i topikalnoj primjeni [49], a on je najzastupljeniji antioksidans topljiv u mastima koji se nalazi u koži [20]. Prirodni izvori vitamina E su svježe povrće, biljna ulja, žitarice i orašasti plodovi.

U skupinu vitamina E ubrajamo osam nutrijenata od kojih je  $\alpha$ -tokoferol biološki najaktivniji oblik u ljudskom tijelu [31]. Vitamin E u svojoj strukturi sadrži 6-kromanski prsten i izoprenoidni lanac [56].



Dominantan oblik vitamina E u koži je  $\alpha$ -tokoferol (slika 15), a uz njega je u *dermisu*, *epidermisu* i *stratum corneumu* prisutan i  $\gamma$ -tokoferol u omjeru 10:1 u *dermisu* te 3:1 u gornjim *slojevima stratum corneuma* [49].



Slika 15 Strukturna formula  $\alpha$ -tokoferola [213]

Vitamin E do kože uglavnom dolazi preko sebuma [20]. Ljudski sebum sadrži visoke koncentracije  $\alpha$ -tokoferola, a sekrecija žlijezda lojnica ima veliku ulogu u prijenosu  $\alpha$ -tokoferola na mjesta bogata žlijezdama na površini kože i *stratum corneumu* [49].

### 3.1.7.3.1 Mehanizam djelovanja

Antioksidacijski učinak  $\alpha$ -tokoferola temelji se na njegovoj sposobnosti hvatanja  $^1\text{O}_2$  i slobodnih radikala te na sprječavanju njihovog stvaranja. Molekula  $\alpha$ -tokoferola ima sposobnost hvatanja do 120 molekula  $^1\text{O}_2$  prije nego što se degradira [56]. Ovaj lipofilni nutrijent ima bitnu antioksidacijsku ulogu tijekom peroksidacije lipida te štiti polinezasićene masne kiseline u staničnim membranama od oksidacije [31].

U studijama *in vitro*  $\alpha$ -tokoferol je značajno spriječio fotooštećenje i stvaranje eritematoznih stanica, degradaciju DNA i lipidnu peroksidaciju izazvane UVB zračenjem [214]. Spriječio je i smanjenje koncentracije glutationa i translokaciju NF- $\kappa$ B te smanjio apoptozu i proliferaciju stanica [215].

*McArdle i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem je jedna skupina ispitanika uz izlaganje UV zračenju dobivala  $\alpha$ -tokoferol u dozi 400 IU dnevno, a druga skupina  $\beta$ -karoten u dozi 15 mg dnevno kroz 8 tjedana. U studiji je sudjelovalo 16 ispitanika. Suplementacija vitaminom E značajno je smanjila koncentraciju MDA u koži, a na ostale antioksidacijske parametre koji su mjereni ovom studijom niti jedan pripravak nije pokazao učinak [216].

Izlaganje UV zračenju smanjuje razinu vitamina E ( $\alpha$ -tokoferola) u koži za oko 50% zbog njegovog učinkovitog hvatanja slobodnih radikala pri uvjetima povećanog stvaranja slobodnih radikala i nedostatka koantioksidansa u *stratum corneumu* [2, 49]. Razine vitamina E u *epidermisu* veće su nego u *dermisu* [5]. Vitamin C, glavni hidrofilni koantioksidans koji je sposoban reciklirati fotoksidirani  $\alpha$ -tokoferol, u *stratum corneumu* se nalazi u jako niskim koncentracijama. Stoga, iscrpljenje zaliha  $\alpha$ -tokoferola u *stratum corneumu* rani je pokazatelj fotooštećenja kože. Zalihe vitamina E u koži mogu se iscrpiti direktno, apsorpcijom UVB zračenja pri čemu nastaje tokoperoksil radikal i indirektno, djelovanjem  $^1\text{O}_2$  i ostalih reaktivnih kisikovih spojeva nastalih djelovanjem UVA zračenja [49].

Radikali vitamina E i tokoferola nisu štetni za stanične strukture te se mogu kemijski inaktivirati ili konvertirati ponovo u aktivne antioksidanse [7]. U *epidermisu* se vitamin C se nalazi u većim koncentracijama nego u *stratum corneumu* te može regenerirati  $\alpha$ -tokoferol iz svojeg radikala, a vitamin C potom regenerira sebe uz pomoć glutationa. Stoga istovremena suplementacija vitamina C i E može dodatno pojačati učinak topikalno primijenjenih sredstava za zaštitu od sunca [49].

### **3.1.7.3.2 Učinak na eritem i vidljive znakove fotooštećenja kože**

Učinkovitost suplementacije vitaminom E na pojavnost i intenzitet fotooštećenja kože istražena je u nekoliko kliničkih studija.

U kliničkom ispitivanju koje su proveli *Fuchs i sur.* i koje je uključivalo 40 ispitanika, korištenjem oralnih oblika vitamina C (3 g/dan) i vitamina E (2 g/dan) kroz 50 dana, pokazalo se smanjenje eritema kože i povećanje minimalne eritemalne doze (MED) u skupinama koje su suplementirale samo vitamin E i kombinaciju vitamina C i E. Oba vitamina djeluju sinergistički u supresiji eritematoznih reakcija [210].

*Eberlein-König i sur.* proveli su kliničko, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanici suplementirali 2 g/dan vitamina C i 1000 I.U./dan vitamina E kroz 8 dana. U studiji je sudjelovalo 10 ispitanika. Rezultati su pokazali povećanu vrijednost MED. Prema tome, kombinacija vitamina C i E smanjuju eritematozne reakcije i UV zračenjem izazvano oštećenje kože [211].

$\alpha$ -tokoferol jedna je od najučinkovitijih molekula u inhibiciji lipidne peroksidacije reducirajući lipidne ROO $\cdot$  u hidroperokside. Tijekom tog detoksikacijskog procesa,  $\alpha$ -tokoferol gubi proton i pretvara se u ne reaktivni radikal koji se potom regenerira vitaminom C, glutationom ili enzimima [20]. Molekula  $\alpha$ -tokoferola štiti do 220 molekula polinezasićenih masnih kiselina od oksidacije prije nego što se degradira [56].

*Mireles-Rocha i sur.* proveli su kliničko, jednostruko slijepo ispitivanje u kojem je kroz tjedan dana jedna skupina ispitanika suplementirala  $\alpha$ -tokoferol u dozi 1200 I.U./dan, druga skupina askorbinsku kiselinu 2 g/dan, a treća skupina kombinaciju vitamina iz prve dvije skupine. U studiji je sudjelovalo 45 ispitanika. Rezultati su pokazali povećanje MED u prvoj i trećoj skupini, a prema dobivenim vrijednostima autori su zaključili da  $\alpha$ -tokoferol u kombinaciji s askorbinskom kiselinom daje bolji fotozaštitni učinak u odnosu na pojedinačnu suplementaciju [206].

Oralno primijenjen vitamin E u koži može djelovati antitumorski i fotozaštitno te ima učinak na stabilizaciju kožne barijere [49].

*Spirt i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanici kroz 12 tjedana unosili 4 kapsule pulpe i koncentrata voća i povrća dnevno, koje su u dnevnoj dozi sadržavale 7,5 mg  $\beta$ -karotena, 46 mg (oko 70 I.U.) vitamina E, 200 mg vitamina C i 400  $\mu$ g folne kiseline. U studiji je sudjelovalo 26 ispitanika. Rezultati su pokazali povećanu mikrocirkulaciju, debljinu i gustoću kože te hidrataciju kože [212].

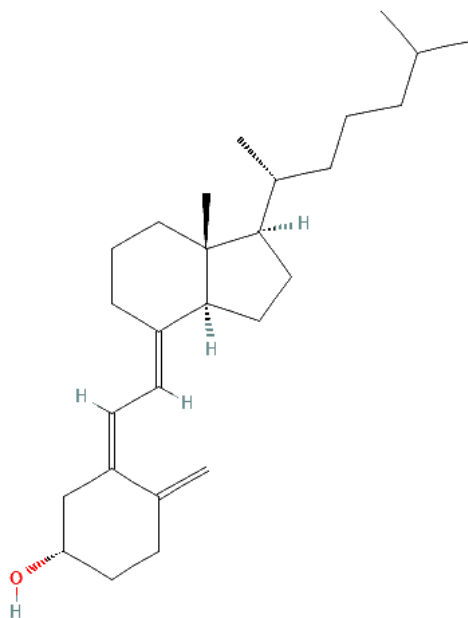
### **3.1.7.3 Doziranje**

Kliničke studije obrađene ovim radom koristile su dnevne doze vitamina E 70 – 1200 I.U. kroz 2 – 3 mjeseca [206, 209-212, 216].

### **3.1.7.4 Vitamin D**

Vitamin D<sub>3</sub> (kolekalciferol) dobiva se oralnim unosom (10%) i endogeno, fotokemijskom pretvorbom iz 7-dehidrokolesterola u *epidermisu* koji nastaje djelovanjem UVB zračenja (90%). Oralnim unosom vitamin D možemo dobiti iz ulja jetre bakalara i masne ribe poput sabljarke, lososa i tune [217]. Na kožu učinak ima i aktivni oblik vitamina D<sub>3</sub> (kalcitriol) koji nastaje u keratinocitima i makrofazima [2].

Epidermalni 7-dehidroksikolesterol (provitamin D<sub>3</sub>) apsorbira UVB zračenje te se potom u keratinocitima i fibroblastima pretvara u previtamin D<sub>3</sub>. Zatim se previtamin D<sub>3</sub> termalnim, neenzimatskim procesom pretvara u kolekalciferol u plazmatskoj membrani [217, 218]. Dodatnim izlaganjem UVB zračenju previtamin D<sub>3</sub> se neenzimatski može pretvoriti i u neaktivne spojeve lumisterol i tahisterol, što predstavlja mehanizam prevencije intoksikacije vitaminom D pri dugom izlaganju suncu. Kolekalciferol se zatim oslobađa iz plazmatske membrane keratinocita, veže se za vitamin D vezujući protein u plazmi i prenosi se u jetru [217]. U jetri i drugim tkivima reakcijom hidroksilacije se 25-hidroksilazom vitamin D<sub>3</sub> pretvara u 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub> te se na posljetku u bubrezima 1 $\alpha$ -hidroksilazom proizvodi kalcitriol (1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>) [218]. Vitamin D se u jetri inkorporira u hilomikrone koji ulaze u krvotok i veže za vitamin D vezujuće proteine i lipoproteine. Kalcitriol je aktivni oblik vitamina D koji regulira homeostazu kalcija i druge autokrine funkcije [217]. Ergokalciferol (vitamin D<sub>2</sub>) nastao djelovanjem UV zračenja na ergosterol iz hrane slijedi isti put pretvorbe u kalcitriol djelovanjem hidroksilaze kao i vitamin D<sub>3</sub> [218]. Slika 16 prikazuje strukturnu formulu kolekalciferola.



Slika 16 Strukturna formula kolekalciferola [219]

#### 3.1.7.4.1 Mehanizam djelovanja

Vitamin D<sub>3</sub> modulira upalni i imunosni odgovor te kancerogenezu [2].

*In vitro* ispitivanje pokazalo je učinak vitamina D na smanjenje upalnog odgovora negativnom regulacijom proupalnih medijatora kao što su TNF- $\alpha$  i IL-6 [220]. Oralna primjena visokih doza vitamina D<sub>3</sub>, nedugo nakon izlaganja UVB zračenju, može obrnuti fotooštećenja nastala na koži i potaknuti mehanizme popravka epidermalne barijere. Dolazi do aktivacije antioksidacijskih odgovora koji djeluju na UVB zračenjem potaknuto stvaranje kisikovih radikala u keratinocitima aktivacijom Nrf2, koji je učinkovit u zaštiti stanice i detoksikaciji, time usporava i starenje. Aktivacijom Nrf2 povećala se ekspresija njegovih ciljnih gena u oksidacijskom odgovoru poput glutation reduktaze, HO-1, katalaze, superoksid dismutaze [221]. Utvrđeno je značajno smanjeno stvaranje timinskih dimera i značajno je povećana ekspresija nuklearnog proteina p53 [221, 222]. Rezultati studije pokazali su da u koži, analog vitamina D 20-hidroksivitamin D<sub>2</sub>, kroz receptore za vitamin D inhibira proliferaciju keratinocita i stanica melanoma te regulira njihovu diferencijaciju [223].

*Scott i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitanici jednokratno suplementirali 200 000 I.J. vitamina D sat vremena nakon zračenja kože UV zračenjem. Ukupno je u studiji sudjelovalo 20 ispitanika. U ispitivanoj skupini, rezultati su pokazali smanjenu ekspresiju proupalnih medijatora TNF- $\alpha$  i iNOS, uočeno je smanjenje eritema kože i značajno povećanje ekspresije gena vezanih uz popravak kožne barijere [224].

Receptori za vitamin D nalaze se na skoro svim stanicama imunološkog sustava, uključujući T i B limfocite, makrofage, NK stanice i regulatorne T stanice (Treg). Imunomodulatorno djelovanje metabolita aktivnog vitamina D uključuje aktivaciju Treg i Th2 te smanjeno djelovanje proupalnog Th1. Stoga, kalcitriol suprimira stanice imunološkog sustava u proizvodnji proupalnih citokina poput IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  i IL-2 te potiče stvaranje protuupalnog citokina IL-10 iz Treg stanica. Potiče i aktivaciju B limfocita te inducira apoptozu. Imunosupresivni učinak vitamin D postiže i izmjenama u epidermalnim Langerhansovim stanicama i proliferacijom Treg stanica [2].

*Bullock i sur.* proveli su kliničku studiju u kojoj su ispitanici suplementirali 10 000 I.J. vitamina D kroz 5 ili 14 dana, a zatim su izloženi fotodinamičkoj terapiji. U svakoj skupini je sudjelovalo 29 ispitanika. Rezultati su pokazali značajno poboljšanje stanja lezija aktiničkih keratoza, stoga autori smatraju da vitamin D značajno poboljšava odgovor aktiničkih keratoza na fotodinamičku terapiju [225].

#### **3.1.7.4.1.1 Učinak na eritem**

*Morse i sur.* proveli su kliničko ispitivanje u kojem je 28 ispitanika suplementiralo 4 kapsule koje u dnevnoj dozi sadrže 1400 mg EPA+DHA, 120 mg  $\gamma$ -linolenske kiseline, 5 mg luteina, 2,5 mg zeaksantina i 1000 I.J. vitamina D<sub>3</sub> kroz 8 tjedana te su izloženi UV zračenju. Rezultati studije pokazali su značajno povećanje MED vrijednosti koja se progresivno povećavala kroz period suplementacije [226].

#### **3.1.7.4.2 Doziranje**

U kliničkim studijama primjenjivane doze vitamina D bile su 1000 – 200 000 I.J., do 8 tjedana primjene [224-226].

### **3.1.8 Ostali fotozaštitni spojevi**

#### **3.1.8.1 Koenzim Q10**

Koenzim Q<sub>10</sub> vrsta je ubikinona topljivog u mastima, a sadrži funkcionalnu skupinu benzokinon koja ima sposobnost primati i donirati elektrone [20].

##### **3.1.8.1.1 Mehanizam djelovanja**

Koenzim Q<sub>10</sub> je antioksidans sa svojstvima hvatanja slobodnih radikala, a može prenositi jedan ili dva elektrona [227]. Stoga, može biti prisutan kao reducirani oblik (CoQ<sub>10</sub>H<sub>2</sub>), kao prijelazni oblik radikal semikinon (CoQ<sub>10</sub>H) te kao potpuno oksidirani oblik (CoQ<sub>10</sub>) [20].

Tijelo koenzim Q<sub>10</sub> koristi kao endogeni antioksidans. Njegova koncentracija indikator je razine oksidacijskog stresa u stanicama [227]. U mitohondrijima, koenzim Q<sub>10</sub> dio je lanca transporta elektrona i doprinosi nastanku ATP-a. Doprinosi zaštiti organizma od peroksidacije lipida, ali nije tako snažan u zaštiti od UV zračenja kao vitamini C i E, a u koži se nalazi u manjim koncentracijama nego oni. Kao i vitamin C, koenzim Q<sub>10</sub> može također reducirati oksidirani oblik vitamina E [20].

Studija *in vivo* pokazala je da koenzim Q<sub>10</sub> u organizmu značajno smanjuje razine spojeva koje doprinose oksidacijskom stresu, poput mijeloperoksidaze, fosfolipaze A2 i MDA, a povećava razine superoksid dismutaze [228].

Koenzim Q<sub>10</sub> može potisnuti i upalu, poboljšati autoimuni odgovor i izmijeniti imunosne stanice. Ispitivanje *in vitro* pokazalo je da koenzim Q<sub>10</sub> može smanjiti sekreciju IL-6 i MMP i vidljivost bora sprječavanjem degradacije komponenata dermalnih vlakana [229]. Istraživanje na stanicama melanoma i u dijelu stanica normalnih melanocita kod oboljelih od melanoma pokazalo je disbalans antioksidacijskog sustava, stoga niske razine koenzima Q<sub>10</sub> u plazmi mogu predstavljati prognostički faktor u progresiji melanoma. Istraživanja pokazuju da koenzim Q<sub>10</sub> može smanjiti održivost SK-MEL-28 stanica stanične linije malignog melanoma kod ljudi i može usporiti migraciju staničnih linija SK-MEL-28 i A2058. Koenzim Q<sub>10</sub> može inhibirati i metastaziranje melanoma inhibicijom migracije stanica i smanjujući aktivnost MMP-2 koja olakšava stanicama melanoma proboj kroz izvanstanični matriks, a time i brže metastaziranje. Rezultati istraživanja pokazuju da koenzim Q<sub>10</sub> može pojačati citotoksičnost Braf inhibitora vemurafeniba. Prema tome, koenzim Q<sub>10</sub> potencijalno može biti dodatak kemoterapiji i imunoterapiji u liječenju melanoma [227].

#### **3.1.8.1.1 Učinak na eritem i vidljive znakove fotooštećenja kože**

*Žmitek i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem su ispitivane skupine suplementirale 50 i 150 mg koenzim Q<sub>10</sub> kroz 12 tjedana uz izloženost UVB zračenju. U studiji je sudjelovalo 33 ispitanika. Rezultati studije pokazali su smanjenje vidljivih znakova starenja, značajno smanjene bore i linije na koži, poboljšana je mekoća kože. MED vrijednost se blago povisila suplementacijom, ali ne značajno što autori pripisuju kratkom periodu suplementacije [230].

*Žmitek i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u kojem je suplementirano 50 mg koenzim Q<sub>10</sub> kroz 12 tjedana. U svakoj skupini sudjelovalo je 17 ispitanika. Rezultati su pokazali povećanu gustoću *dermisa*, smanjenje bora i povećanu mekoću kože [231].

#### **3.1.8.1.2 Doziranje**

U kliničkim studijama suplementirale su se dnevne doze 50 – 150 mg kroz 12 tjedana [230, 231]. U komercijalnim proizvodima količina koenzima koenzim Q<sub>10</sub> koja se suplementira iznosi do 300 mg dnevno [227].

### 3.1.8.2 Omega-3 i omega-6 masne kiseline

Omega-3 i omega-6 su esencijalne nezasićene masne kiseline. Ljudske stanice ne proizvode enzime desaturaze koje stvaraju dvostruku vezu između ugljikovih atoma u masnim kiselinama [20, 232]. Suplementacijom dolazi do njihovog inkorporiranja među lipide epidermalne membrane [233].

U omega-3 masne kiseline ubrajamo  $\alpha$ -linolensku kiselinu i njezina dva aktivna metabolita dokozaheksaensku kiselina (DHA) eikozapentaensku kiselinu (EPA) koja sudjeluje u nastanku eikozanoida koji smanjuju upalu [20, 232].

Omega-6 masne kiseline uključuju linolensku kiselinu. U *epidermisu*, linolenska kiselina nalazi se u ceramidima koji su bitni za formiranje strukture kožne barijere *stratum corneuma*.

$\alpha$ -linolenska kiselina esencijalni je nutrijent kojeg nalazimo u biljnim uljima, orasima, sjemenkama i proizvodima od soje. Ljudsko tijelo ima minimalnu sposobnost pretvorbe  $\alpha$ -linolenske kiseline u njezine aktivne metabolite koji se unose u organizam prvenstveno iz ribe [232].

#### 3.1.8.2.1 Mehanizam djelovanja

Nedostatak nezasićenih masnih kiselina u koži može povećati TEWL i oslabiti funkciju kožne barijere. Učinak vanjski faktora onečišćenog zraka dolazi do oksidacije fosfolipida staničnih membrana pri čemu se aktiviraju proupalne kaskade. Masne kiseline pojačavaju učinak superoksid dismutaze [20]. Omega-3 masne kiseline mogu intervenirati u fotokancerogenezi UV zračenja omogućujući akutnu zašiti od suncem izazvanih opekline. Djeluju na smanjenje UV zračenjem izazvanog oštećenja DNA i moduliraju fotoimunosupresiju [232]. Stoga se suplementacijom masnim kiselinama povećava elastičnost kože, usporava fotostarenje kože [20], smanjuje se upala, fotoimunosupresija, fotokancerogeneza te poremećaji vezani uz fotoosjetljivost [29].

Upalni odgovor vezan uz UV zračenje povezujemo uz stvaranje slobodnih radikala, citokina i eikozanoida. Omega-3 polinezasićene masne kiseline supstrati su za ciklooksigenaze i lipooksigenaze, a enzimskim reakcijama nastaju slabije aktivni prostaglandini i leukotrijeni. EPA i arahidonska kiselina kompetitivni su supstrati za enzime ciklooksigenazu i lipooksigenazu te dolazi do smanjenog stvaranja prostaglandina E2 i leukotrijena B4. Omega-3 suprimiraju u nastanak i IL-1 i TNF- $\alpha$  [233].



*Pilkington i sur.* proveli su kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano ispitivanje u koje su, uz izlaganje UV zračenju, ispitanici suplementirali 5 g EPA kroz 12 tjedana. U studiji je sudjelovalo 79 ispitanika. Rezultati su pokazali značajno smanjenje prostaglandina E2 nakon suplementacije [234].

Suplementacijom omega-3 masnih kiselina koža postaje otpornija na eritem izazvan sunčevim zračenjem. Istraživanje pokazuje da se taj učinak postiže nakon mjesec dana suplementacije i progresivno povećava do šest mjeseci od početka suplementacije [233].

Kliničko, randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje proveli su *Rhodes i sur.* Ispitanici su suplementirali 4 g omega-3 masnih kiselina dnevno kroz 3 mjeseca, uz izlaganje UV zračenju. Rezultati su pokazali smanjenje ranih znakova genotoksičnosti kroz smanjenje eritema, smanjenje UV zračenjem potaknute ekspresije p53 i smanjenje pucanja DNA lanca [235].

#### **3.1.8.2.2 Doziranje**

U kliničkim studijama korištene su dnevne doze omega-3 masnih kiselina 1400 – 5000 mg kroz 3 mjeseca [226, 234, 235]. Preporučuje se dnevno unositi u organizam 1100 – 1600 mg  $\alpha$ -linolenske kiseline koja se u organizmu može pretvoriti u DHA i EPA [232].

#### **3.1.8.3 Selen**

Selen je esencijalni mineral potreban za aktivnost nekih antioksidacijskih enzima [30]. Mnogi endogeni enzimi koji sudjeluju u zaštiti organizma od slobodnih radikala zahtijevaju prisutnost kofaktora za svoj učinak koje mogu dobiti samo suplementacijom.

Selen koji unosimo suplementacijom može biti u obliku selenometionina i drugih seleno amino kiselina te se oni apsorbiraju aktivnim putem i potreban je transportni mehanizam da bi prošli kroz enterocite. Oblik natrijevog selenita pasivno se apsorbira u crijeva.

##### **3.1.8.3.1 Mehanizam djelovanja i učinak na kožu**

Selenoproteini (iz skupina GPX i TXNRD) koriste selen kao kofaktor u hvatanju H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Da bi se selen mogao ukomponirati u polipeptidni lanac mora se unositi u organizam suplementacijom. GPX i TXNRD imaju bitnu ulogu u zaštiti stanica od oksidacijskog stresa, stoga nedostatan unos selena može izazvati

akumulaciju slobodnih radikala i oštećenja nastalih djelovanjem oksidacijskog stresa. Takvi događaji mogu dovesti do preranog starenja kože [20].

### **3.1.8.3.2 Doziranje**

U kliničkim istraživanjima selen se suplementirao u dnevnim dozama 37,5 – 70 µg kroz 7 – 12 tjedana [72, 78].

### **3.1.8.4 Probiotici**

Probiotici su živi organizmi koji reguliraju imunološki sustav crijeva i štite ga od upala i infekcija [11]. Mikrobiom gastrointestinalnog sustava sadrži bakterije, gljivice, protozoe i viruse te utječe na metabolizam i imunitet domaćina. Na funkciju kože može utjecati direktno sekrecijom bakterijskih metabolita ili indirektno regulacijom imunskih stanica.

#### **3.1.8.4.1 Mehanizam djelovanja i učinak na kožu**

Postoji veza između gastrointestinalne mikrobiote i zdravlja kože. Kao odgovor na vanjske stimulanse, intestinalni mikrobiom proizvodi neurotransmitere (dopamin, serotonin,  $\gamma$ -aminomaslačna kiselina i acetilkolin) koji mogu prijeći iz intestinalnog epitela u krvotok i regulirati funkciju kože. Neke bakterije (uključujući laktobacile) mogu proizvesti neurotransmitere koji mogu izmijeniti barijernu funkciju kože. Neke bakterije mogu proizvesti i kratko lančane masne kiseline poput butirata koji se vežu za G-protein vezani receptor (GPCR) koji se nalazi na keratinocitima i inhibiraju upalu regulacijom aktivnosti histon deacetilaze pri čemu se mijenja upalni signalni put NF $\kappa$ B i potiče akumulacija Treg stanica na koži. Treg stanice na koži potiču regeneraciju epitelnih matičnih stanica indukcijom Notch signalizacije. Butirat također može stimulirati sintezu kolagena povećavajući signalizaciju inzulinu sličnog faktora rasta u fibroblastima. Učinak bakterijskih metabolita na kožu ovisi i o vrsti prisutnih bakterija. Neke bakterije (*Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium*) mogu izazvati akumulaciju protuupalnih Treg stanica, dok segmentirane filamentozne bakterije mogu izazvati akumulaciju upalnih Th17 i Th1 stanica koje mogu pogoršati patogenezu upalnih stanja kože (npr. psorijaze). Balans između stanica Treg i Th17 reguliran je intestinalnom mikrobiotom.

Gastrointestinalna mikrobiota može stvarati peptide koji aktiviraju formil peptidne receptore na epitelnim stanicama što potiče Nox da katalizira nastanak slobodnih radikala koji potom reguliraju aktivnost redoks osjetljivih transkripcijskih faktora poput NFκB [20].

*Paguet-Navarro i sur.* proveli su kliničku, randomiziranu, dvostruko slijepu, placebo kontroliranu studiju kroz 6 tjedana, nakon čega su ispitanici bili izloženi UV zračenju. Pokazalo se da suplementacija probiotika *L. johnsonii* ubrzava oporavak funkcije Langerhansovih stanica nakon izlaganja UV zračenju [236].

Kliničkim, randomiziranim, dvostruko slijepim, placebo kontroliranim ispitivanjem *Piyavatin i sur.* dobili su rezultate da i simbiotici suplementirani kroz 12 tjedana imaju pozitivan učinak na zdravlje kože. Pokazuju protuupalni učinak, štite kožu od slobodnih radikala, smanjuju eritem te inhibicijom tirozinaze sprječavaju nastanak melazme [237].

U kliničkom, randomiziranom, dvostruko slijepom, placebo kontroliranom ispitivanju koje su proveli *Ogawa i sur.* pokazalo se da oralna suplementacija bakterijama (*L. brevis*, *L. paracasei*) 25 – 50 mg/dan kroz 12 tjedana rezultira smanjenjem TEWL i povećanom hidratacijom kože te ojačanom funkcijom kožne barijere [238].

### 3.2 Proizvodi na tržištu

Na tržištu vlada trend suplementacije nisko doziranih, multi karotenoidnih pripravaka u kombinaciji s ostalim antioksidansima kako bi se izbjegle potencijalne neželjene nuspojave i kako bi se postigao još veći učinak [23].

Na tržištu Republike Hrvatske nalaze se brojni dodaci prehrani, koji sadrže sastavnice fotozaštitnih svojstava, bilo da se oni nalaze u pripravku zasebno ili u kombinaciji. Neki dodaci prehrani svojim nazivom i ambalažom sugeriraju povoljan učinak na zaštitu kože od sunca, dok su drugi okrenuti ostalim povoljnim učincima (npr. zaštita vida). U nastavku je priložena tablica, koja prikazuje proizvode s fotozaštinim svojstvima, a koji su dostupni na području Republike Hrvatske.

Tablica 1 Proizvodi s fotozaštinim svojstvima prisutni na tržištu Republike Hrvatske

<b>PROIZVOD (PROIZVOĐAČ)</b>	<b>SASTAV<sup>1</sup></b>	<b>PREPORUČENA DNEVNA DOZA PREMA DEKLARACIJI</b>
Astaxanthin (Solgar)	Astaksantin izoliran iz alge <i>Haematococcus pluvialis</i>	5 mg
Astaxanthin (Kal)	Astaksantin izoliran iz alge <i>Haematococcus pluvialis</i>	10 mg
Iceland harvest Astaxanthin (Algalif)	Astaksantin izoliran iz alge <i>Haematococcus pluvialis</i>	4 mg
Prirodni $\beta$ -karoten (Solgar)	Miješani karotenoidi iz prirodnog izvora (alga <i>Dunaliella salina</i> ) $\beta$ -karoten $\alpha$ -karoten ostali karotenoidi	7 mg 331 $\mu$ g 188 $\mu$ g

<sup>1</sup> Navedeni su samo sastojci proizvoda relevantni za ovaj specijalistički rad

β-karoten (Natural Wealth)	β-karoten	6 mg
Beta carotene (Kal)	β-karoten	7,5 mg
Food carotene (Solaray)	β-karoten iz prirodnog izvora (alga <i>Dunaliella salina</i> ) β-karoten Kompleks karotenoida (mrkva, rajčica, spirulina)	1 mg 80 mg
Lutein ekstra (Natural Wealth)	Lutein Zeaksantin Riblje ulje	8 mg 0,4 mg 94 mg DHA
Bilbery & lutein (Solaray)	Lutein iz ekstrakta cvijeta kadifice	6 mg
Lutein eyes (Solaray)	Lutein iz ekstrakta cvijeta kadifice	18 mg
Advanced antioxidant formula (Solgar)	Vitamin C Vitamin E Selen Ekstrakt lista zelenog čaja Ekstrakt crnog vina Piknogenol Ekstrakt sjemenki sikovice β-Karoten Ostali karotenoidi	500 mg 200 I.J. 50 μg 15 mg polifenola 4,5 mg polifenola 50 mg 4,5 mg 12 μg

<p>Sunlove skin+ (Almagea)</p>	<p>Ulje sjemenki boreća Miješani karotenoidi iz alge <i>Haematococcus pluvialis</i> Vitamin E Miješani karotenoidi iz cvijeta kadifice: Lutein Zeaksantin Koenzim Q<sub>10</sub> Selen</p>	<p>45 mg linolenske kiseline  6,6 mg astaksantina  6 mg  1,2 mg 60 µg 2 mg 25µg</p>
<p>Skin UV (Clinmediq)</p>	<p>Resveratrol iz korijena japanskog dvornika β-Karoten Likopen Selen</p>	<p>20 mg  5 mg 1 mg 55 µg</p>
<p>Skinage collagen elegance (Yasenska)</p>	<p>Ekstrakt zelenog čaja  Koenzim Q<sub>10</sub> Vitamin C Nikotinamid</p>	<p>200 mg polifenola  20 mg 100 mg 16 mg</p>
<p>Skinage collagen advanced (Yasenska)</p>	<p>Resveratrol</p>	<p>20 mg</p>

Pycnogenol (Kal)	Piknogenol	50 mg
Heliocare 360° D plus (Cantabria labs)	Fernblock <sup>R</sup> Vitamin B <sub>3</sub> Vitamin D Vitamin E	360 mg 16mg 5µg 12 mg
Heliocare oralne kapsule (Cantabria labs)	Fernblock <sup>R</sup> Zeleni čaj β-Karoten	240 mg 50 mg 4,8 mg
Resveratrol (Solgar)	Korijen japanskog dvornika koji sadrži resveratrol	200 mg
Resveratrol (Solaray)	Ekstrakt pokožice grožđa Ekstrakt korijena japanskog dvornika Ekstrakt sjemenke grožđa Ekstrakt crnog vina	40 mg polifenola 60 mg resveratrola 95 mg polifenola 50 mg polifenola
Resveratrol, acai i koenzim Q10 (lifeTIME)	Resveratrol iz korijena japanskog dvornika Koenzim Q <sub>10</sub>	100 mg 50 mg
Makulin Pronerve (Dietpharm)	Ekstrakt zelenog čaja Ekstrakt kore primorskog bora	68 mg epigalokatehin-3- galata 53 mg

Makulin Plus (Dietpharm)	Lutein	10 mg
	Zeaksantin	2 mg
	Riblje ulje	400 mg
	Vitamin C	60 mg
	Vitamin E	10 mg
Makulin Vitreo (Dietpharm)	Ekstrakt sjemenki grožđa	28 mg proantocijanidina
	Vitamin C	80 mg
	Vitamin E	10 mg
	Selen	28 µg
Nutrof total (Thea)	Resveratrol	1 mg
	Lutein	10 mg
	Zeaksantin	2 mg
	Riblje ulje	330 mg
	Vitamin C	60 mg
	Vitamin D	5 µg
	Vitamin E	10 mg
	Selen	25 µg
Resvega (Thea)	Resveratrol	30 mg
	Lutein	10 mg
	Zeaksantin	2 mg
	Riblje ulje	570 mg
	Vitamin C	240 mg
	Vitamin D	5 µg
	Vitamin E	30 mg
	Selen	25 µg



Milk thistle phytosome (Solaray)	Silimarin iz ekstrakta sikavice	200 mg
Sikavica (Solgar)	Ekstrakt sjemenki sikavice	175 mg
Nutri-nano <sup>tm</sup> Co-Q <sub>10</sub> (Solgar)	Koenzim Q <sub>10</sub>	30 mg
CoQ-10 (Kal)	Koenzim Q <sub>10</sub> Vitamin E β-Karoten	60 mg 40 mg 450 μg
Bio -CoQ-10 (Solaray)	Koenzim Q <sub>10</sub> Vitamin E β-Karoten	100 mg 67 mg 233 μg
Pure CoQ-10 (Solaray)	Koenzim Q <sub>10</sub> Vitamin E	200 mg 26,8 mg
Pure CoQ-10 (Solaray)	Koenzim Q <sub>10</sub>	30 mg
Koencim 10 plus (Dietpharm)	Koenzim Q <sub>10</sub> Vitamin C Vitamin E β-Karoten Selen	30 mg 40 mg 21,7 mg 2 g 15 μg
Vitamin C (Solgar)	Vitamin C	500 mg
Vitamin C (Solaray)	Vitamin C iz šipka i acerole	1000 mg

Vitamin E (Kal)	$\alpha$ -tokoferol	200 I.J.
Vitamin E (Solgar)	$\alpha$ -tokoferol	200 I.J.
Vitamin D <sub>3</sub> (Kal)	Prirodni kolekalciferol iz ulja jetre bakalara	1000 I.J.
Liquid Vitamin D <sub>3</sub> (Solgar)	Kolekalciferol	2500 I.J.
Selen (Natural Wealth)	Selen	50 $\mu$ g
Selenium (Kal)	L-selenometionin	100 $\mu$ g
Bio E + selenium (Solaray)	$\alpha$ -tokoferol L-selenometionin	134 mg 50 $\mu$ g

## 4 Rasprava

Pregled dostupne literature pokazao je da sastavnice biljnog porijekla, primijenjene peroralnim putem, mogu različitim mehanizmima djelovanja zaštititi kožu od štetnih učinaka sunčevog zračenja. Iako je dostupan mali broj kliničkih studija, brojne *in vitro* i *in vivo* studije potvrđuju mehanizme djelovanja i učinkovitost ovim radom obrađenih nutrijenata u svrhu fotozaštite. Dostupne kliničke studije prvenstveno dokazuju učinkovitost ovih nutrijenata na vidljive znakove fotostarenja kože, eritem i hiperpigmentaciju kože.

Redovito korištenje sustavne fotozaštite može doprinijeti dugoročnoj zaštiti od UV zračenjem izazvanih oštećenja kože, iako je opseg zaštite koju pružaju oralno primijenjeni fotozaštitni nutrijenti varijabilan i klinički neusporediv s visokim zaštitnim faktorima topikalnih pripravaka. Endogena ili sistemska fotozaštita kože može se ojačati suplementacijom sastavnica za fotozaštitnim svojstvima [8] koje mogu inhibirati, obrnuti ili usporiti štetne učinke UV zračenja na kožu [3]. Da bi oralno primijenjeni nutrijenti imali fotozaštitni učinak moraju biti prisutni u koži, a to može biti varijabilno ovisno o apsorpciji i bioraspoloživosti određenih sastavnica. Primjerice polifenoli pokazuju slabu bioraspoloživost u koži, kao i vitamini topljivi u vodi. Karotenoidima se bioraspoloživost može povećati termalnom obradom i unosom s lipidima.

Mehanizme štetnosti sunčevog zračenja možemo podijeliti na oštećenje molekule DNA, upalu, supresiju imunološkog sustava, promjenu strukture izvanstaničnog matriksa i inhibiciju stvaranja ATP-a [1, 6].

Antioksidacijski učinak pokazuju sve biljne sastavnice obrađene ovim specijalističkim radom, a najviše dostupnih podataka iz kliničkih studija imaju karotenoidi ( $\beta$ -karoten, likopen, astaksantin, lutein i zeaksantin). Učinak na sprječavanje oštećenja DNA i fotokancerogeneze, prema kliničkim studijama, najučinkovitiji su paprat *Polipodium leucotomos*, nikotinamid,  $\beta$ -karoten i astaksantin. Za protuupalni učinak, najviše podataka iz kliničkih ispitivanja dostupno je za likopen, sjemenke kakaa i *Polipodium leucotomos*, a ispitivanja na nikotinamidu i *Polipodium leucotomos* pokazuju relevantne podatke za zaštitu od fotoimunopresije. Na sprječavanje inhibicije stvaranja ATP-a podaci iz kliničkih studija postoje za nikotinamid. Najviše podataka iz kliničkih studija za učinak na strukture izvanstaničnog matriksa postoji

za lutein i astaksantin. Likopen, sjemenke kaka, *Polipodium leucotomos* te kombinacija vitamina C i E prema kliničkim studijama pokazuju najjači učinak na eritem izazvan sunčevim zračenjem. Zaštitni učinak na fotooštećenja kože i fotostarenje kliničke studije pokazuju najviše podataka za lutein, zeaksantin, astaksantin, piknogenol i *Polipodium leucotomos*.

Antioksidacijski učinak u fotozaštiti kože pokazuju  $\beta$ -karoten, likopen, astaksantin, lutein, zeaksantin, piknogenol, kakao, sjemenke grožđa, silimarin, *Polipodium leucotomos*, nar, zeleni čaj, vitamin C, vitamin E, vitamin D i koenzim Q<sub>10</sub> u 13 kliničkih, 18 *in vitro* i 8 *in vivo* studija.

$\beta$ -karoten u 2 kliničke studije pokazuje svoj antioksidacijski učinak smanjenom peroksidacijom lipida i smanjenom količinom UV zračenjem nastalih lipoperoksida [72]. Likopen je u 2 kliničke studije pokazao smanjeno upalno oksidacijsko oštećenje i smanjene vrijednosti proteina LDL peroksidaze, koja je biomarker oksidacijskog stresa [77]. Druga je studija pokazala da likopen inhibira UVA i UVB induciranu ekspresiju gena ICAM-1 i enzima HO-1, koji su indikatori oksidacijskog stresa [62]. Antioksidacijski učinak pokazao je i astaksantin u 2 kliničke studije u kojima je smanjio oksidaciju lipida [93] i osjetno smanjio koncentracije MDA u plazmi [94]. Lutein i zeaksantin također pokazuju antioksidacijski učinak, a potvrdile su ga 2 kliničke studije čiji su rezultati pokazali veću koncentraciju lipida u koži, značajno smanjenje peroksidacije lipida i zaštitu kože od slobodnih radikala [108, 109]. Antioksidacijski potencijal kaka utvrđen je 1 kliničkom studijom kojom je utvrđeno smanjeno stvaranje slobodnih radikala [126]. U 1 kliničkoj studiji, nar je pokazao značajnu sposobnost hvatanja slobodnih radikala, dakle antioksidacijski učinak [174]. Antioksidacijski učinak zelenog čaja utvrđen je iz 1 kliničkog ispitivanja koje je pokazalo je da zeleni čaj pojačava kapacitet hvatanja slobodnih radikala u ljudskoj koži [185]. Vitamin C u 1 kliničkoj studiji pokazuje antioksidacijski potencijal. Rezultati su pokazali značajnu aktivnost hvatanja slobodnih radikala, a ta aktivnost se povećala s povećanjem doze vitamina C [208]. Vitamin E u 1 je kliničkoj studiji pokazao antioksidacijski učinak. Klinička studija je pokazala značajno smanjenje koncentracije MDA u koži [216]. Selen je u 1 kliničkoj studiji u kombinaciji s drugim antioksidansima pokazao antioksidacijski učinak smanjenjem razine UV zračenjem nastalih lipoperoksida [72].

Učinak na sprječavanje oštećenja DNA i fotokancerogeneze pokazuju  $\beta$ -karoten, astaksantin, zeaksantin, sjemenke grožđa, silimarin, *Polipodium leucotomos*, nar, zeleni čaj, vitamin B<sub>3</sub>, vitamin C, vitamin E, vitamin D, koenzim Q<sub>10</sub> i omega masne kiseline u 15 kliničkih, 23 *in vitro* i 9 *in vivo* studija.

Učinak  $\beta$ -karotena na popravak DNA istražen je u 2 kliničke studije. Rezultati studija pokazali su da  $\beta$ -karoten u stanicama ulazi u interakciju s UVA zračenjem i sprječava mutacije mitohondrijske DNA te potiče ekspresiju p53 gena i time štiti od nastanka tumora kože i starenja [72]. Klinička studija pokazuje smanjenje UV zračenjem nastalih timinskih dimera i 8-OHdG pri suplementaciji niže doze  $\beta$ -karotena (30 mg/dan) [71]. Astaksantin u 2 kliničke studije pokazuje učinak na sprječavanje oštećenja DNA. Kliničke studije pokazale su učinak astaksantina na smanjenje 8-OHdG, biomarkera oštećenja DNA [95, 96]. *Polipodium leucotomos* je u 3 kliničke studije pokazao preventivni učinak na oštećenje DNA. U kliničkom [161] ispitivanju zaključeno je da su nakon suplementacije *Polipodium leucotomos* značajno smanjeni markeri štetnosti zračenja poput oštećenih stanica, CPD [161, 163], ciklin D1 i Ki-67 [161] te da je prisutno manje proliferiranih epidermalnih stanica [163]. Kod ispitanika, primijetilo se blago smanjenje fotooštećenja i markera fotostarenja manifestiranog kao kromosomske delecije mitohondrijske DNA [161, 162]. Zeleni čaj učinak u zaštiti DNA pokazuje u 1 kliničkoj studiji koja je pokazala značajno djelovanje zelenog čaja na smanjenje genotoksičnih učinaka i oštećenje molekule DNA [187]. Učinak nikotinamida u prevenciji fotokancerogeneze pokazuju 3 kliničke studije. Kliničke studije pokazale su smanjenje pojavljivanja tumora nemelanomskog tipa, karcinoma bazalnih stanica, skvamoznih stanica i aktiničkih keratoza [201] te značajno smanjenje veličine aktiničkih keratoza. Dio pacijenata pokazao je potpunu kliničku regresiju i niti jedna nova aktinička keratoza nije nastala [202]. U studiji u kojoj su sudjelovali ispitanici s tumorom kože nemelanomskog tipa i ekspresijom HIF-1 $\alpha$  i p53, nikotinamid je značajno smanjio ekspresiju mRNA i proteina HIF-1 $\alpha$  i p53 [203]. Kombinacija vitamina C i vitamina E u 1 kliničkoj studiji pokazala je učinak na zaštitu DNA. Rezultati su pokazali značajno smanjenje povećanog broja timinskih dimera koji su nastali kao rezultat UV zračenja. Ova kombinacija antioksidansa zaštitila je kožu od oštećenja DNA izazvanog UV zračenjem [209]. Učinak na popravak DNA pokazuje i vitamin D u 1 kliničkom ispitivanju. Rezultati kliničke studije pokazali su značajno poboljšanje stanja lezija aktiničkih keratoza [225]. U 1 kliničkoj studiji omega masne kiseline

pokazale su smanjenje ranih znakova genotoksičnosti kroz smanjenje UV zračenjem potaknute ekspresije p53 i smanjenje pucanja DNA lanca [235].

Protuupalni učinak na štetno djelovanje sunčevog zračenja pokazuju  $\beta$ -karoten, likopen, astaksantin, lutein, piknogenol, kakao, sjemenke grožđa, *Polipodium leucotomos*, nar, zeleni čaj, vitamin B<sub>3</sub>, vitamin D, omega masne kiseline i probiotici u 12 kliničkih, 14 *in vitro* i 12 *in vivo* studija. Likopen u 2 kliničke studije pokazuje osjetnu molekularnu zaštitu od UVB induciranih proupalnih citokina (IL-6 i TNF $\alpha$ ) i njihove smanjene vrijednosti u serumu inhibicijom ekspresije puta NF- $\kappa$ B [62, 83]. Astaksantin je svoj protuupalni učinak pokazao u 1 kliničkoj studiji koja je pokazala utjecaj astaksantina na supresiju sekrecije upalnih citokina [96]. Protuupalni učinak pokazao je i lutein u 1 kliničkoj studiji u kojoj je pokazao osjetnu molekularnu zaštitu od UVB induciranih proupalnih citokina (IL-6 i TNF $\alpha$ ) i njihove smanjene vrijednosti u serumu inhibicijom ekspresije puta NF- $\kappa$ B [62]. Na protuupalni učinak kakaa provedena su 2 klinička ispitivanja koja su pokazala smanjenu aktivaciju leukocita i inhibiciju upalnog odgovora [126] te značajno smanjenu aktivaciju NF- $\kappa$ B [127]. Protuupalni učinak paprat *Polipodium leucotomos* pokazala je u 3 kliničke studije. Dvije kliničke studije pokazale su smanjenu upalu inhibicijom COX-2 [160, 161]. U trećoj kliničkoj studiji utvrđena je inhibicija pada broja Langerhansovih stanica [163]. Svoj protuupalni učinak, zeleni čaj pokazao je u 1 kliničkoj studiji. Klinička studija pokazala suprimiranu sintezu stvaranja eikozanoida 12-HETE u koži inhibicijom lipooksigenaze. 12-HETE može potaknuti dermalnu vazodilataciju i infiltraciju leukocita, a njegova inhibicija može doprinijeti smanjenju upale [186]. Vitamin D pokazao je protuupalni učinak u 1 kliničkoj studiji čiji rezultati pokazuju smanjenu ekspresiju proupalnih medijatora TNF- $\alpha$  i iNOS [224]. U 1 kliničkoj studiji omega masne kiseline pokazale su značajno smanjenje prostaglandina E2 nakon suplementacije [234]. Suplementacija probiotika *L. johnsonii* u 1 kliničkom ispitivanju ubrzala je oporavak funkcije Langerhansovih stanica nakon izlaganja UV zračenju [236].

Imunosupresivni učinak pokazuju astaksantin i vitamin B<sub>3</sub> u 2 kliničke studije.

Klinička studija pokazala je da astaksantin znatno podupire funkciju imunološkog sustava pojačavajući proizvodnju imunoglobulina u limfocitima kao odgovor na stimulanse ovisne o T stanicama te povećava mitogenom induciranu proliferaciju limfocita T i B. Astaksantin ima mogućnost pojačanja citotoksičnog

učinka prirodnih stanica ubojica (NK stanica) pri čemu one mogu služiti kao nadzorni sustav protiv tumorskih i virusom inficiranih stanica, a može pojačati učinak i citotoksičnih T limfocita. Aktivirane T stanice i NK stanice proizvode interferon IFN- $\gamma$  koji je uključen u regulaciju imuniteta i diferencijaciju B stanica [95]. U 2 kliničke studije nikotinamid je osjetno smanjio značajnu imunosupresiju koju je izazvala fotodinamička terapija [198, 199].

Učinak na strukture izvanstaničnog matriksa pokazuju  $\beta$ -karoten, likopen, astaksantin, piknogenol, kakao, sjemenke grožđa, *Polipodium leucotomos*, nar, zeleni čaj, vitamin B<sub>3</sub>, vitamin C i koenzim Q<sub>10</sub> u 7 kliničkih, 17 *in vitro* i 5 *in vivo* studija. Utjecaj  $\beta$ -karoten na strukture izvanstaničnog matriksa istražen je 1 kliničkoj studiji u kojoj je primijećeno povećanje razina mRNA za prokolagen tipa I [71]. 2 kliničke studije pokazale su da lutein inhibira ekspresiju MMP-1 [62, 79]. Na strukture izvanstaničnog matriksa astaksantin je zaštitni učinak pokazao u 2 kliničke studije u kojima je smanjio ekspresiju MMP-1, MMP-3, MMP-12 i MMP-13 te enzimatske aktivnosti matriksnih metaloproteinaza [96, 99]. Povećao je ekspresiju mRNA prokolagena tipa I [99]. Piknogenol je u 1 kliničkom ispitivanju pokazao učinak na strukture izvanstaničnog matriksa. Klinička studija pokazala je utjecaj piknogenola na značajno povećanje aktivnosti mRNA za enzim hijaluronska kiselina sintetazu-1, koji je bitan za sintezu hijaluronske kiseline u koži te povećanjem aktivnosti gena uključenih u sintezu kolagena [120]. *Polipodium leucotomos* pokazala je učinak na strukture izvanstaničnog matriksa u 1 kliničkom ispitivanju, kojim su dobiveni rezultati smanjenja markera oštećenja stanice poput matriksnih metaloproteinaza. Vidljiv je osjetan trend u smanjenju razina MMP-2 te blaži trend u smanjenju MMP-1, MMP-9 te Bcl-2 [160]. Zeleni čaj u 1 kliničkoj studiji pokazuje učinak na strukture izvanstaničnog matriksa. Kliničko istraživanje pokazalo je poništenu promjenu komponente elastičnih vlakana fibulina 5 kod ispitanika koji su suplementirali zeleni čaj. Fibulin 5 odgovoran je za regulaciju organizacije vlakana u fibroblastima [190].

UV zračenje inhibira stvaranje ATP-a, pri čemu se radi nastanka energetske kriza narušava imunitet kože i popravak DNA [43]. Adekvatna količina ATP-a bitna je za dinamiku strukture kromatina i popravak DNA koji može biti narušen UV zračenjem, a nikotinamid sprječava UV zračenjem izazvanu

iscrpljenost zaliha ATP-a u keratinocitima te time povećava količinu stanične energije [191]. Učinak na inhibiciju stvaranja ATP-a pokazuje nikotinamid, u 2 *in vitro* studije.

Ublažavanje i sprječavanje eritema izazvanog UV zračenjem pokazuju  $\beta$ -karoten, likopen, lutein, astaksantin, piknogenol, kakao, sjemenke grožđa, *Polipodium leucotomos*, nar, zeleni čaj, vitamin C, vitamin E, vitamin D i omega masne kiseline u 32 kliničke studije.

3 klinička ispitivanja pokazala su da  $\beta$ -karoten značajno povećava vrijednosti MED te smanjuje UV zračenjem izazvan eritem [72-74]. Likopen je u 5 kliničkih studija pokazao značajnu zaštitu od UVB zračenjem izazvanog eritema [79-83]. Astaksantin je učinak na eritem pokazao u 1 kliničkoj studiji čiji su rezultati su pokazali povećanje vrijednosti MED nakon suplementacije [97]. Lutein je u 1 kliničkoj studiji u kombinaciji s drugim karotenoidima pokazao učinak na smanjenje UV zračenjem izazvanog eritema [73]. Piknogenol je u 2 kliničke studije pokazao značajno povećanje parametra MED, preventivni učinak i učinak na smanjenje eritema izazvanog UV zračenjem [39, 112]. 4 klinička ispitivanja pokazala su učinak kakaa na smanjenje eritema kože nakon UV zračenja [124, 131] te povećanje MED vrijednosti kroz 12 - 24 tjedna suplementacije [129, 132]. 1 klinička studija pokazuje učinak sjemenki grožđa na zaštitu od eritema kože. Peroralnom primjenom vina značajno se povećao parametar MED neposredno nakon izlaganja UVB zračenju [145]. Učinak paprati *Polipodium leucotomos* na eritem kože, pokazale su 4 kliničke studije. Rezultati studija pokazali su da ovaj ekstrakt smanjuje oštećenje izazvano UV zračenjem na temelju rezultata koji pokazuju povećanje parametra MED [164] i smanjenje intenziteta eritema izazvanog UV zračenjem [161, 163, 164, 166]. Nar pokazuje zaštitni učinak od eritema u 3 kliničke studije. Studijama je utvrđeno značajno povećanje vrijednosti MED [175, 176] te učinak na povlačenje blažih eritema izazvanih UV zračenjem [177]. Zeleni čaj je u 3 kliničke studije pokazao da se UV zračenjem izazvan eritem značajno smanjio [186, 188, 189]. Vitamin C u kombinaciji s vitaminom E, u 4 je kliničke studije pokazao učinak na eritem. Rezultati studije pokazali su značajno smanjenje eritema izazvanog UV zračenjem [209] te povećanje MED [206, 210, 211].  $\alpha$ -tokoferol u kombinaciji s askorbinskom kiselinom daje bolji fotozaštitni učinak u odnosu na pojedinačnu suplementaciju [206]. Vitamin D u 2 kliničke studije pokazao je smanjenje eritema kože, značajno povećao ekspresije gena vezanih uz popravak kožne barijere [224] te značajno povećao MED



vrijednosti koje su se progresivno povećavale kroz period suplementacije [226]. U 1 kliničkoj studiji omega masne kiseline pokazale su smanjenje eritema [235]. Selen je u 1 kliničkoj studiji u kombinaciji s drugim antioksidansima smanjio UV zračenjem izazvan eritem [72].

Fotozaštitu kože smanjenjem vidljivih znakova fotooštećenja kože i fotostarenja pokazuju  $\beta$ -karoten, likopen, astaksantin, lutein, zeaksantin, piknogenol, kakao, sjemenke grožđa, *Polipodium leucotomos*, nar, zeleni čaj, vitamin B<sub>3</sub>, vitamin C, vitamin E, koenzim Q<sub>10</sub> i probiotici u 32 kliničke, 3 *in vitro*, 1 *in vivo* i 2 *ex vivo* studije.

2 klinička ispitivanja u kojima se suplementirao  $\beta$ -karoten pokazuje da  $\beta$ -karoten značajno utječe na prevenciju stvaranja bora i smanjenje elastičnosti kože. Studije su provedene u skupini koja je suplementirala manju dozu (30 mg/dan) [74] i u skupini koja je koristila kombinaciju antioksidansa gdje su rezultati pokazali značajno povećanje debljine i gustoće kože te glatkoće i mekoće kože [78]. Likopen je u 2 klinička ispitivanja pokazao značajno povećanje debljine, gustoće, glatkoće i mekoće kože [78] te smanjenu dubinu bora na licu [79]. 4 kliničke studije pokazale su učinak astaksantina na smanjenje znakova fotostarenja. Studije su pokazale učinak astaksantina na poboljšanu elastičnost kože [96, 98, 99] te na smanjeni TEWL [97-99]. Ispitanici su subjektivno zaključili da im je koža mekša i glađa [97]. Astaksantin je pozitivno djelovao i na smanjenje bora, smanjenje pigmentacijskih mrlja, bolju teksturu kože te veći udio vlage u korneocitima i bolje opće stanje korneocita [98]. Lutein i zeaksantin pozitivne učinke na smanjenje vidljivih znakova fotostarenja pokazali su u 4 kliničke studije. Rezultati studije pokazali su povećanu elastičnost kože [108], povećanu hidrataciju kože [108-110] te smanjenje bora i finih linija na koži [110]. Studija u kojoj se suplementirao lutein u kombinaciji s drugim antioksidansima pokazala značajno povećanje debljine i gustoće kože te glatkoće i mekoće kože [78]. Na smanjenje vidljivih znakova fotostarenja kože, učinak je pokazao i piknogenol u 4 klinička ispitivanja. Rezultati kliničkih studija pokazali su manju incidencija teleangiektazije u melazmi [27] te osjetno smanjenje veličine melazme i intenziteta pigmentacije [119]. Piknogenol je pokazao i regulaciju ekspresije gena koji su u ljudskoj koži uključeni u sintezu melanina. Unos piknogenola značajno je inhibirao UV zračenjem induciranu aktivnost transkripcijskog faktora vezanog uz mikroftalmiju, tirozinazom vezan protein-1 i melanomski antigen kojeg prepoznaju T stanice i smanjio je mRNA ekspresiju tirozinaze.

Piknogenol je pokazao i učinak na bolju elastičnost i hidrataciju kože, a time i na glatkoću zbog povećane aktivnosti ekspresije gena koji sudjeluju u sintezi kolagena i hijaluronske kiseline [120]. Također, sprječava dehidraciju kože i TEWL [112]. Učinak kakaa na znakove fotostarenja utvrđeni su u 3 kliničke studije. Kliničke studije pokazale su pozitivan učinak kakaa na vidljivost bora, elastičnost kože [129], veću gustoću, hidrataciju kože i mekoću kože [131] te osjetno veću prokrvljenost kože i zasićenost krvi kisikom [130, 131]. 2 kliničke studije pokazuju pozitivan učinak sjemenki grožđa na hiperpigmentacije. Dokazalo se da oralnim unosom ekstrakta sjemenki grožđa može doći do redukcije u hiperpigmentaciji melazme, a pretpostavlja se da je razlog tome inhibicija melanogeneze ili proliferacije melanocita na mjestu melazme [146]. Značajno se smanjio indeks melanina i jačina pigmentacije te se utvrdilo značajno povećanje hidratacije kože u *stratum corneum* [147]. *Polipodium leucotomos* u 5 kliničkih studija pokazuje pozitivne učinke na nuspojave vidljivog zračenja u vidu smanjenja pigmentacija izazvanih zračenjem [165] i slabijim manifestiranjem pigmentacija nakon ponovnog zračenja [160, 165]. Rezultati studije pokazali su povećanu elastičnost i hidrataciju kože te smanjen TEWL [166, 168]. Na ispitanicima s polimorfnom erupcijom svjetlosti suplementacija ekstrakt paprati *Polipodium leucotomos* pokazala je poboljšanje simptoma bolesti i normalizaciju odgovora na izlaganje suncu [167]. Učinak na znakove fotostarenja kože nar je pokazao u 3 kliničke studije. Kliničke studije pokazale su veću hidrataciju kože, manju pigmentiranost inhibicijom tirozinaze [174, 177] i veću gustoću kolagena [174]. Uočeno je i blago smanjenje u stvaranju melanina u epidermalnim melanocitima [176]. Zeleni čaj je u 2 kliničke studije pokazao pozitivne učinke na znakove fotostarenja kože. Klinička studija pokazala je da je koža postala elastičnija, gušća, mekša, glađa i hidratizirana. Povećana je prokrvljenost kože i zasićenost krvi kisikom [188]. Rezultati su pokazali i značajno poboljšanje UV zračenjem oštećene kože i teleangiektazije [189]. Nikotinamid je u 1 kliničkoj studiji pokazao značajno smanjenje TEWL i potencijal u jačanju barijerne funkcije kože [204]. Vitamin C pokazuje sinergistički učinak s vitaminom E u 1 kliničkoj studiji. Rezultati su pokazali povećanu mikrocirkulaciju, debljinu i gustoću kože te hidrataciju kože [212]. Koenzim Q<sub>10</sub> je u 2 kliničke studije pokazao smanjenje vidljivih znakova starenja, značajno smanjene bora i linija na koži [230, 231], povećanu gustoću *dermisa* i povećanu mekoću kože [231]. Selen je u 1 kliničkoj studiji u kombinaciji s drugim antioksidansima pokazao značajno povećanje debljine i gustoće kože te glatkoće i mekoće kože

[78]. Probiotici u 2 kliničke studije pokazuju pozitivne učinke na vidljive znakove starenja. Studije su pokazale inhibiciju tirozinaze i sprječavanje nastanak melazme [237] te smanjenje TEWL, povećanu hidrataciju kože i ojačanu funkciju kožne barijere [238].

Tablica 2 Doziranje biljnih sastavnica obrađenih u ovom specijalističkom radu. Prikazane su doze korištene u kliničkim ispitivanjima te doze komercijalno prisutnih proizvoda u Republici Hrvatskoj

<b>BILJNA SASTAVNICA</b>	<b>DNEVNE DOZE KORIŠTENE U KLINIČKIM STUDIJAMA</b>	<b>KOMERCIJALNO DOSTUPNE DOZE U GOTOVIM PROIZVODIMA<sup>2</sup></b>
β-karoten	3 – 30 mg [71-74]	2 – 7,5 mg
Likopen	3 – 20 mg [62, 73, 77-83]	1 mg
Astaksantin	2 – 12 mg [93-99]	4 – 10 mg
Lutein	6 – 20 mg [62, 73, 108, 109]	1,2 – 18 mg
Zeaksantin	0,6 mg [108]	0,06 – 2 mg
Piknogenol	75 – 150 mg [27, 39, 112, 119, 120]	50 – 53 mg
Kakao	320 – 600 mg flavanola [129-132]	Nema podataka
Sjemenke grožđa	162 – 200 mg proantocijanidina [143, 146]	4,5 – 95 mg polifenola 1 – 200 mg resveratrola
Silimarin	Nema podataka	200 mg
<i>Polipodium leucotomos</i>	240 – 480 mg [160-166]	240 – 360 mg
Nar	1000 mg [176]	Nema podataka
Zeleni čaj	360 – 1402 mg katehina [186, 188-190]	15 – 200 mg polifenola
Vitamin B <sub>3</sub>	500 – 1500 mg [198, 199, 201-204 ]	16 mg
Vitamin C	100 – 3000 mg [206, 208-212]	60 – 1000 mg
Vitamin E	70 – 1200 I.J. [209, 210, 206, 211, 212, 216]	9 – 200 I.J.

<sup>2</sup> Proizvodi obuhvaćeni ovim specijalističkim radom

Vitamin D	1000 – 200 000 I.J. [224-226]	200 – 2500 I.J.
Koenzim Q <sub>10</sub>	50 – 150 mg [230, 231]	2 – 200 mg
Omega masne kiseline	1400 – 5000 mg [226, 234, 235]	94 – 570 mg
Selen	37,5 – 70 µg [72, 78]	15 – 55 µg
Probiotici ( <i>L. brevis</i> , <i>L. paracasei</i> )	25 – 50 mg [238]	Nema podataka

## 5 Zaključak

Svakodnevno smo izloženi UV zračenju, bilo djelovanjem sunčevog zračenja ili korištenjem još uvijek popularnih kozmetičkih tretmana. Unazad nekoliko desetljeća izlaganje kože štetnim UV zrakama postalo je sve učestalije, stoga je kožu potrebno adekvatno zaštititi.

Endogena zaštita kože dobivena unosom suplemenata nije usporediva s topikalnom primjenom sredstava s visokim zaštitnim faktorom. Međutim, redovito korištenje sustavne fotozaštite može doprinijeti dugoročnoj zaštiti od UV zračenjem izazvanih oštećenja kože [8] te se osnovna zaštitna funkcija kože može sistemski pojačati kako bi se dobila veća otpornost na oštećenja nastala UV zračenjem. Sustavno primijenjeni spojevi, nakon što postignu svoje djelovanje prisutni su u cijelom površinskom dijelu kože [23], stoga idealan pripravak za postizanje oralne fotozaštite je onaj s dobrim afinitetom za nakupljanje u koži [2]. Prednost im također predstavlja jednostavna primjena, učinkovitost na koju ne utječu vanjski faktori iz okoliša, mogućnost određivanja poluvremena života primijenjenih molekula te neovisnost o svojstvima apsorpcije kroz kožu [2, 52].

Opseg zaštite koju pružaju oralno primijenjeni fotozaštitni nutrijenti varijabilan je i klinički neusporediv s visokim zaštitnim faktorima topikalnih pripravaka. Oralnim pripravcima potreban je i vremenski period za postizanje sustavne fotozaštite, kao što npr. karotenoidima treba barem 8 tjedana suplementacije. Stoga, primjena isključivo oralnih pripravaka ne pruža apsolutnu fotozaštitu, ne može zamijeniti topikalne pripravke za zaštitu kože od sunca i nije dovoljna zaštita od ozbiljnih stanja poput raka keratinocita i solarnih keratoza [23]. Oralni fotozaštitni spojevi kožu ne štite direktno od oštećenja izazvanog UV zračenjem i potencijalno mogu izazvati nuspojave, a unutarnji faktori u organizmu ih mogu modificirati [52].

Oralna i topikalna fotozaštita prvenstveno su komplementarne strategije kako bi se postigla efektivna zaštita kože od sunca [23].

## 6 Referencije

- [1] Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. *Nutrients* 2018; 10:522.
- [2] Parrado C, Philips N, Gilaberte Y, Juarranz A, Gonzalez S. Oral Photoprotection: Effective Agents and Potential Candidates. *Front. Med.* 2018; 5:188.
- [3] Nichols J, Katiyar SH. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch dermatol res* 2010; 302:71-83.
- [4] Yeager DG, Lim HW. What's new in photoprotection: A review of new concepts and controversies. *Dermatol clin* 2019; 37:149-157.
- [5] Fernández-García E. Photoprotection of human dermal fibroblasts against ultraviolet light by antioxidant combinations present in tomato. *Food Funct* 2014; 5:285-290.
- [6] Solano F. Photoprotection and skin pigmentation: melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. *Molecules* 2020; 25:1573.
- [7] Skotarczak K, Osmola-Mańkowska A, Lodyga M, Polańska A, Mazur M, Adamski Z. Photoprotection: facts and controversies. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2015; 19:98-112.
- [8] Stahl W, Heinrich U, Aust O, Tonniér H, Sies H. Lycopene-rich products and dietary photoprotection. *Photochem Photobiol Sci* 2006; 5:238-242.
- [9] Zhou X, Cao Q, Orfila C, Zhao J, Zhang L. Systematic review and meta-analysis on the effects of astaxanthin on normal skin ageing. *Nutrients* 2021; 13:2917.
- [10] Skarupova D, Vostalova J, Svobodova AJ. Ultraviolet A protective potential of plant extracts and phytochemicals. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2020; 164:1-22.
- [11] Searle T, Ali FR, Al-Niami F. Systemic photoprotection in 2021. *Clinical and Experimental Dermatology* 2021; 46:1189-1204.

- [12] Roberts RL, Green J, Lewis B. Lutein and zeaxanthin in eye and skin health. *Clinics in Dermatology* 2009; 27:195-201.
- [13] Robert C, Bonnet M, Marques S, Numa M, Doucet O. Low to Moderate Doses of Infrared A Irradiation Impair Extracellular Matrix Homeostasis of the Skin and Contribute to Skin Photodamage. *Skin Pharmacol Physiol* 2015; 28:196–204.
- [14] Brenner M, Hearing V. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem photobiol* 2008; 84:539-549.
- [15] Leonardi GC, Falzone L, Salemi R i sur. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *International Journal Of Oncology* 2018; 52:1071-1080.
- [16] Kim YJ, Kang KS, Yokozawa T. The anti-melanogenic effect of pycnogenol by its anti-oxidative actions. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46:2466-2471.
- [17] Taylor SC, Alexis AF, Armstrong AW, Chiesa Fuxench Z, Lim HW. Misconceptions of photoprotection in skin of color. *J Am Acad Dermatol* 2021; 86:9-17.
- [18] Balić A, Mokos M. Do We Utilize Our Knowledge of the Skin Protective Effects of Carotenoids Enough? *Antioxidants* 2019; 8:259.
- [19] Stahl W, Sies H. Photoprotection by dietary carotenoids: concept, mechanisms, evidence and future development. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56:287-295.
- [20] Woodby B, Penta K, Pecorelli A, Lila MA, Valacchi G. Skin Health form the Inside Out. *Annu Rev Food Sci Technol* 2020; 11:5.1–5.20.
- [21] Poon F. Mechanisms and Treatments of Photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2015; 2:65-74.
- [22] Rajnochová Svobodová A, Gabrielová E, Michaelides L. UVA-photoprotective potential of silymarin and silybin. *Arch Dermatol Res* 2018; 310:413-424.

- [23] Baswan SM, Klosner AE, Weir C i sur. Role of ingestible carotenoids in skin photoprotection: a review of clinical evidence. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2021; 00:1-15.
- [24] Calniquer G, Khanin M, Ovadia H. Combined Effects of Carotenoids and Polyphenols in Balancing the Response of Skin Cells to UV Irradiation. *Molecules* 2021; 26:1931.
- [25] Bosch R, Philips N, Suárez-Pérez JA i sur. Mechanisms of photoageing and cutaneous photocarcinogenesis, and protective strategies with phytochemicals. *Antioxidants* 2015; 4:248-268.
- [26] Gao W, Wang YS, Hwang E i sur. Rubus idaeus L. (red raspberry) blocks UVB-induced MMP production and promotes type I procollagen synthesis via inhibition of MAPK/AP-1, NF- $\kappa$ B and stimulation of TGF- $\beta$ /Smad, Nrf2 in normal human dermal fibroblasts. *Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology* 2018; 185:241-253.
- [27] Lima PB, Dias JAF, Esposito ACC, Miot LDB, Miot HA. French maritime pine bark extract (pycnogenol) in association with triple combination cream for the treatment of facial melasma in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2020; 35:502-508.
- [28] Rochette P, Brash D. Human Telomeres Are Hypersensitive to UV-Induced DNA Damage and Refractory to Repair. *PLoS Genet* 2010; 6:1-13.
- [29] Andrade MJ, Van Lonkhuyzen D, Upton Z, Satyamoorthy K. Unravelling the insulin-like growth factor I-mediated photoprotection of the skin. *Cytokine Growth Factor Rev* 2020; 52:45-55.
- [30] Granger C, Aladren S, Delgado J, Garre A, Trullas C, Gilaberte Y. Prospective Evaluation of the Efficacy of a Food Supplement in Increasing Photoprotection and Improving Selective Markers Related to Skin Photo-Ageing. *Dermatol Ther* 2020; 10:163-178.
- [31] Evans JA, Johnson EJ. Role of phytonutrients in skin health. *Nutrients* 2010; 2:903-928.
- [32] Ndyae M, Philippe C, Mukhtar H, Ahmad N. Grape antioxidant resveratrol for skin disorders: promise, prospects, and challenges. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2011; 508:164-170.



- [33] Hu S, Zhang X, Chen F, Wang M. Dietary polyphenols as photoprotective agents against UV radiation. *Journal of Functional Foods* 2017; 30:108–118.
- [34] Snaidr VA, Damian DL, Halliday GM. Nicotinamide for photoprotection and skin cancer chemoprevention: A review of efficacy and safety. *Experimental Dermatology* 2019; 28:15–22.
- [35] Benjamin CL, Ullrich SE, Kripke ML, Ananthaswamy HN. p53 Tumor Suppressor Gene: A Critical Molecular Target for UV Induction and Prevention of Skin Cancer. *Photochemistry and Photobiology* 2008; 84:55-62.
- [36] Fang Q, Guo S, Zhou H, Han R, Wu P, Han C. Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis. *Sci Rep* 2017; 27:7.
- [37] Naman Singh K, Patil S, Barkate H. Protective effects of astaxanthin on skin: recent scientific evidence, possible mechanisms, and potential indications. *J Cosmet Dermatol* 2019; 00:1-6.
- [38] Xiang Chang M, Xiong F. Astaxanthin and its effects in inflammatory responses and inflammation-associated diseases: recent advances and future directions. *Molecules* 2020; 25:5342.
- [39] Saliou C, Rimbach G, Moini H i sur. Solar ultraviolet-induced erythema in human skin and nuclear-factor-kappa-B-dependent gene expression in keratinocytes are modulated by a french maritime pine bark extract. *Free Radical Biology and Medicine* 2001; 30:154-160.
- [40] Solt LA, May MY. The I $\kappa$ B kinase complex: master regulator of NF- $\kappa$ B signaling. *Immunol Res* 2008; 42: 3–18.
- [41] Nishida Y, Nawaz A, Hecht K, Tobe K. Astaxanthin as a novel mitochondrial regulator: a new aspect of carotenoids, beyond antioxidants. *Nutrients* 2022; 14:107.
- [42] Anjani G, Ajustanigwarno F, Eviana R. Critical review on the immunomodulatory activities of carrot's  $\beta$ -carotene and other bioactive compounds. *Journal of Functional Foods* 2022; 99:1-11.
- [43] Chen CA, Damian DL, Halliday GM. Oral and systemic photoprotection. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2014; 30:102–111.

- [44] Hammouda M, Ford AE, Liu Y, Zhang JY. The JNK Signaling Pathway in Inflammatory Skin Disorders and Cancer. *Cells* 2020; 9:857.
- [45] Darvin ME, Lademan J, von Hagen J i sur. Carotenoids in Human Skin In Vivo: Antioxidant and Photo-Protectant Role against External and Internal Stressors. *Antioxidants* 2022; 11:1451.
- [46] Hyung Kim S, Kim H. Inhibitory effects of astaxanthin on oxydative stress-induced mitochondrial dysfunction – a mini-review. *Nutrients* 2018; 10:1137.
- [47] Higuera Ciapara I, Félix-Valenzuela L, Goycoolea FM. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Food Science and Nutrition* 2006; 46:185-196.
- [48] Martin MA, Ramos S. Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. *Journal of Functional Foods* 2016; 27:570-588.
- [49] Thiele JJ, Ekanayake-Mudiyanselage S. Vitamin E in human skin: organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology. *Mol Aspects Med* 2007; 28:646-670.
- [50] Eberlein-König B, Ring J. Relevance of vitamins C and E in cutaneous photoprotection. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2005; 4:4–9.
- [51] Ambati RR, Phang SM, Ravi S, Aswathanarayana RG. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial application – a review. *Mar Drugs* 2014; 12:128-152.
- [52] Fania L, Sampogna F, Ricci F i sur. Systemic photoprotection in Skin Cancer Prevention: Knowledge among Dermatologists. *Biomolecules* 2021; 11:332.
- [53] Przybylska S. Lycopene – a bioactive carotenoid offering multiple health benefits: a review. *Internation Journal of Food Science and Technology* 2019; 1-21.
- [54] Hajizadeh-Sharafabad F, Sharifi Zahabi E, Malekahmadi M, Zarrin R, Alizadeh M. Carotenoids supplementaion and inflammation: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Food Science and Nutrition* 2021; 1-17.

- [55] Saini RK, Prasad P, Lokesh V. Carotenoids: Dietary Sources, Extraction, Encapsulation, Bioavailability, and Health Benefits—A Review of Recent Advancements. *Antioxidants* 2022; 11:795.
- [56] Anstey AW. Systemic photoprotection with  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) and  $\beta$ -carotene. *Clinical and Experimental Dermatology* 2002; 27:170-176.
- [57] Lietz G, Oxley A, Boesch-Saadatmandi C, Kobayashi D. Importance of b,b-carotene 15,150-monooxygenase 1 (BCMO1) and b,b-carotene 90,100-dioxygenase 2 (BCDO2) in nutrition and health. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56:241-250.
- [58] Murillo AG, Hu S, Fernandez ML. Zeaxanthin: metabolism, properties, and antioxidant protection of eyes, heart, liver and skin. *Antioxidants* 2019; 8:390.
- [59] Milani A, Basirnejad M, Shahbazi S, Bolhassani A. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *British Journal of Pharmacology* 2017; 174:1290–1324.
- [60] Ascenso A, Ribeiro H, Marques HC, Oliviera H, Santos C, Simões C. Chemoprevention of photocarcinogenesis by lycopene. *Experimental Dermatology* 2014; 23:874-878.
- [61] Kim JE, Song D, Kim J i sur. Oral supplementation with cocoa extract reduces UVB-induced wrinkles in hairless mouse skin. *J Invest Dermatol* 2016; 136:1012-1021.
- [62] Grether-Beck S, Marini A, Jaenicke T, Stahl W, Krutmann J. Molecular evidence that oral supplementation with lycopene or lutein protects human skin against ultraviolet radiation: results from a double-blinded, placebo-controlled, cross-over study. *Br J Dermatol* 2017; 176:1231-1240.
- [63] PubChem: Beta-Carotene. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280489#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [64] Kotake-Nara E, Hase M. Effect of dispersed form on the bioavailability of  $\beta$ -carotene from daily intake in humans. *Biosci Biotechnol Biochem* 2020; 84:2545-2557.
- [65] Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 2007; 55:207-216.

- [66] Wertz K, Buchwald Hunziker P, Seifert N i sur.  $\beta$ -Carotene Interferes with Ultraviolet Light A-Induced Gene Expression by Multiple Pathways. *J Invest Dermatol* 2005; 124:428-434.
- [67] Wertz K, Seifert N, Buchwald Hunziker P i sur.  $\beta$ -Carotene Inhibits Uva-Induced Matrix Metalloprotease 1 And 10 Expression In Keratinocytes By A Singlet Oxygen-Dependent Mechanism. *Free Radical Biology and Medicine* 2004; 37:654-670.
- [68] Trekli MC, Riss G, Goralczyk R, Tyrrell RM. Beta-Carotene Suppresses Uva-Induced Ho-1 Gene Expression In Cultured Fek4. *Free Radical Biology & Medicine* 2003; 34:456–464.
- [69] Eicker J, Kürten V, Wild S. i sur. Betacarotene supplementation protects from photoaging-associated mitochondrial DNA mutation. *Photochem Photobiol Sci* 2003; 2:655–659.
- [70] Guruvayoorappan C, Kuttan G.  $\beta$ -Carotene Inhibits Tumor-Specific Angiogenesis by Altering the Cytokine Profile and Inhibits the Nuclear Translocation of Transcription Factors in B16F-10 Melanoma Cells. *Integrative Cancer Therapies* 2007; 6:258-270.
- [71] Cho S, Lee DH, Won CH. I sur. Differential Effects of Low-Dose and High-Dose Beta-Carotene Supplementation on the Signs of Photoaging and Type I Procollagen Gene Expression in Human Skin in vivo. *Dermatology* 2010; 221:160–171.
- [72] Césarini –JP, Michel L, Maurette JM, Adhoute H, Béjot M. Immediate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2003; 19:182–189.
- [73] Heinrich U, Gärtner C, Wiebusch M i sur. Supplementation with  $\beta$ -Carotene or a Similar Amount of Mixed Carotenoids Protects Humans from UV-Induced Erythema. *J Nutr* 2003; 133:98-101.
- [74] Lee J, Jiang S, Levine N, Watson RR. Carotenoid supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223:170-174.
- [75] Fam VW, Charoenwoodhipong P, Sivamani RK, Holt RR, Keen CL, Hackman RM. Plant-Based Foods for Skin Health: A Narrative Review. *J Acad Nutr Diet* 2022; 122:614-629.

- [76] PubChem: Lycopene. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/446925#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [77] Chernyshova MP, Pristenskiy DV, Lozbiakova MV, Chalyk NE, Bandaletova TY, Petyaev IM. Systemic and skin-targeting beneficial effects of lycopene-enriched ice cream: A pilot study. *J Dairy Sci* 2019; 102:14–25.
- [78] Heinricha U, Tronnier H, Stahl W, Béjot M, Maurette JM. Antioxidant Supplements Improve Parameters Related to Skin Structure in Humans. *Skin Pharmacol Physiol* 2006; 19:224–231.
- [79] Jenkins G, Wainwright LJ, Holland R, Barrett KE Casey J. Wrinkle reduction in post-menopausal women consuming a novel oral supplement: a double-blind placebo-controlled randomized study. *International Journal of Cosmetic Science* 2014; 36:22–31.
- [80] Rizwan M, Rodriguez-Blanco I, Harbottle A, Birch-Machin MA, Watson REB, Rhodes LE. Tomato paste rich in lycopene protects against cutaneous photodamage in humans in vivo: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 2011; 164:154-162.
- [81] Stahl W, Heinrich U, Wiseman S, Eichler O, Sies H, Tronnier H. Dietary Tomato Paste Protects against Ultraviolet Light-Induced Erythema in Humans. *J Nutr* 2001; 131:1449-1451.
- [82] Aust O, Stahl W, Sies H, Tonnier H, Heinrich U. Supplementation with TomatoBased Products Increases Lycopene, Phytofluene, and Phytoene Levels in Human Serum and Protects Against UV-light-induced Erythema. *Int J Vitam Nutr Res* 2005; 75:54–60.
- [83] Groten K, Marini A, Grether-Beck S. Tomato Phytonutrients Balance UV Response: Results from a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Skin Pharmacol Physiol* 2019; 32:101–108.
- [84] Xiang Ng Q, Zhi Qing de Dein ML, Loke W, Xinhui Foo N, Chan HW, Yeo WS. Effects of astaxanthin supplementation on skin health: a systematic review of clinical studies. *Journal of Dietary Supplements* 2020; 1-14.
- [85] Stachowiak B, Szulc P. Astaxantin for the food industry. *Molecules* 2021; 26:2666.

- [86] PubChem: Astaxanthin. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281224#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [87] Terazawa S, Nakajima H, Shingo M, Niwano T, Imokawa G. Astaxanthin attenuates the UVB-induced secretion of prostaglandin and interleukin-8 in human keratinocytes by interrupting MSK1 phosphorylation in a ROS depletion-independent manner. *Experimental Dermatology* 2012; 21:11–17.E2
- [88] Lee SJ, Bai SK, Lee KS i sur. Astaxanthin Inhibits Nitric Oxide Production and Inflammatory Gene Expression by Suppressing I $\kappa$ B Kinase-dependent NF- $\kappa$ B Activation. *Mol Cells* 2003; 16:97-105.
- [89] Yoshihisa Y, ur Rehman M, Shimizu T. Astaxanthin, a xanthophyll carotenoid, inhibits ultraviolet-induced apoptosis in keratinocytes. *Experimental Dermatology* 2014; 23:178–183.
- [90] Sukanuma K, Nakajima H, Ohtsuki M, Imokawa G. Astaxanthin attenuates the UVA-induced up-regulation of matrix metalloproteinase-1 and skin fibroblast elastase in human dermal fibroblasts. *Journal of Dermatological Science* 2010; 58:136-142.
- [91] Chen WP, Xiong Y, Shi YX, Hu PF, Bao JP, Wu LD. Astaxanthin reduces matrix metalloproteinase expression in human chondrocytes. *Int Immunopharmacol* 2014; 19:174-177.
- [92] Meephansan J, Rungjang A, Yingmema W, Deenonpoe R, Ponnikorn S. Effect of astaxanthin on cutaneous wound healing. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 2017; 10:259-265.
- [93] Karppi J, Rissanen TH, Nyysönen K i sur. Effects of Astaxanthin Supplementation on Lipid Peroxidation. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77:3–11.
- [94] Chalyk NE, Klochkov VA, Bandaletova TY, Kyle NH, Petyaev IM. Continuous astaxanthin intake reduces oxidative stress and reverses age-related morphological changes of residual skin surface components in middle-aged volunteers. *Nutr Res* 2017; 48:40-48.
- [95] Park JS, Chyun JH, Kim YK, Line LL, Chew BP. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition and Metabolism* 2010; 7:18.

- [96] Tominaga K, Hongo N, Fujishita M, Takahashi Y, Adachi Y. Protective effects of astaxanthin on skin deterioration. *J Clin Biochem Nutr* 2017; 61:33-39.
- [97] Ito N, Seki S, Ueda F. The Protective Role of Astaxanthin for UV-Induced Skin Deterioration in Healthy People—A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients* 2018; 10:817.
- [98] Tominaga K, Hongo N, Karato M, Yamashita E. Cosmetic benefits of astaxanthin on humans subjects. *Acta Biochim Pol* 2012; 59:43-7.
- [99] Yoon HS, Cho HH, Cho S, Lee SR, Shin MH, Chung JH. Supplementing with Dietary Astaxanthin Combined with Collagen Hydrolysate Improves Facial Elasticity and Decreases Matrix Metalloproteinase-1 and -12 Expression: A Comparative Study with Placebo. *J Med Food* 2014; 17:810-816.
- [100] Brendler T, Williamson EM. Astaxanthin: how much is too much? A safety review. *Phytotherapy research* 2019; 1-22.
- [101] Demmig-Adams B, López-Pozo M, Stewart JJ, Adams II WW. Zeaxanthin and lutein: photoprotectors, anti-inflammatories, and brain food. *Molecules* 2020; 25:3607.
- [102] Edwards JA. Zeaxanthin: review of toxicological data and acceptable daily intake. *Journal of Ophthalmology* 2016; 1-15.
- [103] Pub Chem: Lutein. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281243#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [104] Pub Chem: Zeaxanthin. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280899#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [105] Aziz E, Batool R, Akhtar W i sur. Xanthophyll: Health benefits and therapeutic insights. *Life Sci* 2020; 240:117104.

- [106] Zou X, Gao J, Zheng Y i sur. Zeaxanthin induces Nrf2-mediated phase II enzymes in protection of cell death. *Cell Death Dis* 2014; 5:1218.
- [107] Peng CL, Lin ZF, Su YZ, Lin GZ, Dou HY, Zhao CX. The antioxidative function of lutein: electron spin resonance studies and chemical detection. *Functional Plant Biology* 2006; 33:839-846.
- [108] Palombo P, Fabrizi G, Ruocco E. i sur. Beneficial Long-Term Effects of Combined Oral/Topical Antioxidant Treatment with the Carotenoids Lutein and Zeaxanthin on Human Skin: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20:199–210.
- [109] Morganti P, Brunoy C, Guarneriz F, Cardillo A, Del Ciotto P, Valenzano F. Role of topical and nutritional supplement to modify the oxidative stress. *International Journal of Cosmetic Science* 2002; 24:331-339.
- [110] Schwartz S, Frank E, Gierhart D, Simpson P, Frumento R. Zeaxanthin-based dietary supplement and topical serum improve hydration and reduce wrinkle count in female subjects. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2016; 0:1-8.
- [111] Obana A, Gohto Y, Nakazawa R, Moriyama T, Gellermann W, Barnstein PS. Effects of an antioxidant supplement containing high dose lutein and zeaxanthin on macular pigment and skin carotenoid levels. *Sci Rep* 2020; 10:10262.
- [112] Zhao H, Wu J, Wang N, Grether-Beck S, Krutmann J, Wei L. Oral Pycnogenol Intake Benefits the Skin in Urban Outdoor Chinese Workers: A Randomized, Placebo-controlled, Double-Blind, and Crossover Intervention Study. *Skin Pharmacol Physiol* 2021; 34:135-145.
- [113] Grether-Beck S, Marini A, Jaenicke T, Krutmann J. French Maritime Pine Bark Extract (Pycnogenol) Effects on Human Skin: Clinical and molecular evidence. *Skin Pharmacol Physiol* 2016; 29:13-17.
- [114] D'Andrea G. Pycnogenol: a blend of procyanidins with multifaceted therapeutic applications. *Fitoterapia* 2010; 81:726-736.



- [115] PubChem: Procyanidin. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/107876#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [116] Packer L, Rimbach G, Virgili F. Antioxidant activity and biologic proprieties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. Free Radical Biology and Medicine 1999; 27:704-724.
- [117] Grimm T, Schäfer A, Högger P. Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract (pycnogenol). Free Radical Biology and Medicine 2004; 36:811-822.
- [118] Peng Q, Wei Z, Lau BHS. Pycnogenol inhibits tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced nuclear factor kappa B activation and adhesion molecule expression in human vascular endothelial cells. Cell Mol Life Sci 2000; 57:834-841.
- [119] Ni Z, Mu Y, Gulati O. Treatment of Melasma with Pycnogenol. Phytother. Res. 2002; 16:567-571.
- [120] Marini A, Grether-Beck S, Jaenicke T i sur. Pycnogenol Effects on Skin Elasticity and Hydration Coincide with Increased Gene Expressions of Collagen Type I and Hyaluronic Acid Synthase in Women. Skin Pharmacol Physiol 2012; 25:86–92.
- [121] Mogollon AJ, Boivin C, Lemieux S, Blanchet C, Claveau J, Dodin S. Chocolate flavonols and skin photoprotection: a parallel, double-blind, randomised, clinical trial. Nutrition Journal 2014; 13:66
- [122] Martin MA, Ramos S. Impact of cocoa flavanols on human health. Food and Chemical Toxicology 2021; 151:112121.
- [123] PubChem: (-)-Epicatechin. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/72276#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.

- [124] Calzavara-Pinton P, Calzavara-Pinton I, Arisi M i sur. Cutaneous photoprotective activity of a short-term ingestion of high-flavanol cocoa: a nutritional intervention study. *Photochemistry and Photobiology* 2019; 95:1029-1034.
- [125] Karim AA, Azlan A, Ismail A i sur. Phenolic composition, antioxidant, anti-wrinkles and tyrosinase inhibitory activities of cocoa pod extract. *Complementary and Alternative Medicine* 2014; 14:381.
- [126] Barrera-Reyes PK, Hernández-Ramírez N, Cortés J. i sur. Gene expression changes by high-polyphenols cocoa powder intake: a randomized crossover clinical study. *European Journal of Nutrition* 2019; 58:1887–1898.
- [127] Vásquez-Agell M, Urpi-Sarda M, Sacanella E i sur. Cocoa consumption reduces NF- $\kappa$ B activation in peripheral blood mononuclear cells in humans. *Metabolism and Cardiovascular diseases* 2013; 23:257-263.
- [128] Gasser P, Lati E, Peno-Mazzarino L, Bouzoud D, Allegaert L, Bernaer H. Cocoa polyphenols and their influence on parameters involved in ex vivo skin restructuring. *International Journal of Cosmetic Science* 2008; 30:339–345.
- [129] Yoon HS, Kim JR, Park GY i sur. Cocoa Flavanol Supplementation Influences Skin Conditions of Photo-Aged Women: A 24-Week Double-Blind, Randomized, Controlled Trial. *J Nutr* 2016; 146:46–50.
- [130] Neukam K, Stahl W, Tronnier H, Sies H, Heinrich U. Consumption of flavanol-rich cocoa acutely increases microcirculation in human skin. *Eur J Nutr* 2007; 46:53-56.
- [131] Heinrich U, Neukam K, Tronnier H, Sies H, Stahl W. Long-Term Ingestion of High Flavanol Cocoa Provides Photoprotection against UV-Induced Erythema and Improves Skin Condition in Women. *J Nutr* 2006; 136:1565-1569.
- [132] Williams S, Tamburic S, Lally C. Eating chocolate can significantly protect the skin from UV light. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2009; 8:169-173.

- [133] Lim HW, Arellano-Mendoza MI, Stengel F. Current challenges in photoprotection. *J Am Acad Dermatol* 2017; 76:91-99.
- [134] Di Francesco S, Savio M, Bloise N. i sur. Red grape (*Vitis vinifera* L.) flavonoids down-regulate collagen type III expression after UV-A in primary human dermal blood endothelial cells. *Exp Dermatol* 2018; 27:973-980.
- [135] PubChem: Resveratrol. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/445154#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [136] Perde-Schlepler M, Chereches G, Brie I. Grape seed extract as photochemopreventive agent against UVB-induced skin cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2013; 118:16–21.
- [137] Liu Y, Chan F, Sun H i sur. Resveratrol protects human keratinocytes HaCaT cells from UVA-induced oxidative stress damage by downregulating Keap1 expression. *European Journal of Pharmacology* 2011; 650:130-137.
- [138] Adhami VM, Afaq F, Ahmad N. Suppression of Ultraviolet B Exposure-Mediated Activation of NF-KB in Normal Human Keratinocytes by Resveratrol. *Neoplasia* 2003; 5:74-82.
- [139] Roy P, Kalra N, Nigram N. Resveratrol enhances ultraviolet B-induced cell death through nuclear factor-κB pathway in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009; 384:215–220.
- [140] Madan E, Prasad S, Roy P, George J, Shukla Y. Regulation of apoptosis by resveratrol through JAK/STAT and mitochondria mediated pathway in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2008; 377:1232-1237.
- [141] Kim AL, Zhu Y, Zhu H i sur. Resveratrol inhibits proliferation of human epidermoid carcinoma A431 cells by modulating MEK1 and AP-1 signalling pathways. *Experimental Dermatology* 2006; 15:538-546.

- [142] Sharma SD, Meeran SM, Katiyar SK. Dietary grape seed proanthocyanidins inhibit UVB-induced oxidative stress and activation of mitogenactivated protein kinases and nuclear factor- $\kappa$ B signaling in in vivo SKH-1 hairless mice. *Mol Cancer Ther* 2007; 6:995-1005.
- [143] Kim J, Oh J, Averilla JN, Kim HJ, Kim JS, Kim JS. Grape peel extract and resveratrol inhibit wrinkle formation in mice model through activation of Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Journal of Food Science* 2019; 84:1600-1608.
- [144] Filip GA, Postescu ID, Bolfa P, Catoi C, Muresan A, Clichici S. Inhibition of UVB-induced skin phototoxicity by a grape seed extract as modulator of nitrosative stress, ERK/NF- $\kappa$ B signaling pathway and apoptosis, in SKH-1 mice. *Food and Chemical Toxicology* 2013; 57:296–306.
- [145] Moehrle M, Dietrich H, Patz CD, Häfner HM. Sun protection by red wine? *JDDG* 2009; 7:29-32.
- [146] Yamakoshi J, Sano A, Tokutake S. Oral Intake of Proanthocyanidin-Rich Extract from Grape Seeds Improves Chloasma. *Phytother Res* 2004; 18:895–899.
- [147] Tsuchya T, Fukui Y, Izumi R, Numano K, Zeida M. Effects of oligomeric proanthocyanidins (OPCs) of red wine to improve skin whitening and moisturizing in healthy women – a placebo-controlled randomized double-blind parallel group comparative study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24:1571-1584.
- [148] Wadhwa K, Pahwa R, Kumar M i sur. Mechanistic insights into the pharmacological significance of silymarin. *Molecules* 2022; 27:5327.
- [149] Svobodová AR, Gabrielová E, Ulrichová J, Zálešák B, Biedermann D, Vostálová J. A pilot study of the UVA-photoprotective potential of dehydrosilybin, isosilybin, sylchristin, and syldianin on human dermal fibroblasts. *Archives of Dermatological Research* 2019; 311:477-490.
- [150] PubChem: 23-O-Acetyl-2,3-cis-silybin A. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/102368691#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.

- [151] Katyar SK, Mantena SK, Meeran SM. Silymarin Protects Epidermal Keratinocytes from Ultraviolet Radiation-Induced Apoptosis and DNA Damage by Nucleotide Excision Repair Mechanism. PLoS 2011; 6:1-11.
- [152] Narayanapillai S, Agarwal C, Tilley C, Agarwal R. Silibinin is a Potent Sensitizer of Ultraviolet A Radiation-induced Oxidative Stress and Apoptosis in Human Keratinocyte HaCaT Cells. Photochem Photobiol 2012; 88:1135-1140.
- [153] PubChem: Ferulic acid. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/445858>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [154] Jańczyk A, Garcia-Lopez A, Fernandez-Peñas P i sur. A *Polypodium leucotomos* extract inhibits solar-simulated radiation-induced TNF- $\alpha$  and iNOS expression, transcriptional activation and apoptosis. Experimental Dermatology 2007; 16:823-829.
- [155] Gonzalez S, Alcaraz MV, Cuevas J, Perez M, Jaen P, Alvarez-Mon M, Villarrubia VG. An extract of the fern *Polypodium leucotomos* (Difur) modulates Th1/Th2 cytokines balance in vitro and appears to exhibit anti-angiogenic activities in vivo: pathogenic relationships and therapeutic implications. Anticancer Res 2000; 20:1567-1575.
- [156] Philips N, Conte J, Chen YJ. Beneficial regulation of matrixmetalloproteinases and their inhibitors, fibrillar collagens and transforming growth factor- $\beta$  by *Polypodium leucotomos*, directly or in dermal fibroblasts, ultraviolet radiated fibroblasts, and melanoma cells. Arch Dermatol Res 2009; 301:487-495.
- [157] Zamarrón A, Lorrio S, González S, Juarranz A. Fernblock Prevents Dermal Cell Damage Induced by Visible and Infrared A Radiation. Int J Mol Sci 2018; 19:2250.
- [158] Mulero M, Rodriguez-Yanes E, Nogues MR. *Polypodium leucotomos* extract inhibits glutathione oxidation and prevents Langerhans cell depletion induced by UVB/UVA radiation in a hairless rat model. Experimental Dermatology 2008. 17:653-658.

- [159] Zattra E, Coleman C, Arad S. *Polypodium leucotomos* Extract Decreases UV-Induced Cox-2 Expression and Inflammation, Enhances DNA Repair, and Decreases Mutagenesis in Hairless Mice. *Am J Pathol* 2009; 175:1952–1961.
- [160] Mohammad TF, Kohli I, Nicholson CL i sur. Oral *Polipodium leucotomos* extract and its impacts on visible light-induced pigmentation in human subjects. *J Drugs Dermatol* 2019; 18:1198-1203.
- [161] Kohli I, Shafi R, Isedeh P. The impact of oral *Polypodium leucotomos* extract on ultraviolet B response: A human clinical study. *J Am Acad Dermatol* 2017; 77:33-41.
- [162] Villa A, Vierra MH, Amini S i sur. Decrease of ultraviolet A light-induced “common deletion” in healthy volunteers after oral *Polypodium leucotomos* extract supplement in a randomized clinical trial. *J Am Acad Dermatol* 2010; 62:511-513.
- [163] Middlekamp-Hup MA, Pathak MA, Parrado C. Oral *Polypodium leucotomos* extract decreases ultraviolet-induced damage of human skin. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51:910-918.
- [164] Nestor MS, Berman B, Swenson N. Safety and Efficacy of Oral *Polypodium leucotomos* Extract in Healthy Adult Subjects. *J Clin Aesthet Dermatol* 2015; 8:19-23.
- [165] Goh CL, Chuah SY, Tien S, Thng G, Vitale MA, Delgado-Rubin A. Double-blind, Placebo-controlled Trial to Evaluate the Effectiveness of *Polypodium Leucotomos* Extract in the Treatment of Melasma in Asian Skin: A Pilot Study. *J Clin Aesthet Dermatol* 2018; 11:14–19.
- [166] Emanuele E, Bertona M, Biagi M. Comparative effects of a fixed *Polypodium leucotomos*/Pomegranate combination versus *Polypodium leucotomos* alone on skin biophysical parameters. *Neuro Endocrinol Lett* 2017; 38:38-42.
- [167] Caccialanza M, Percivalle S, Piccinno R, Brambilla R. Photoprotective activity of oral *polypodium leucotomos* extract in 25 patients with idiopathic photodermatoses. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2007; 23:46–47.

- [168] Suzuki A, Nomura T, Jokura H, Kitamura N, Fujii A, Hase T. Beneficial effects of oral supplementation with ferulic acid, a plant phenolic compound, on the human skin barrier in healthy men. *Int J Vitam Nutr Res* 2023; 93:54-60
- [169] Afaq F, Zaid MA, Khan N, Dreher M, Mukhtar H. Protective effect of pomegranate-derived products on UVB-mediated damage in human reconstituted skin. *Experimental Dermatology* 2009; 18:553–561.
- [170] Baccarin T, Mitjans M, Ramos D, Lemos-Senna E, Vinardell MP. Photoprotection by Punica granatum seed oil nanoemulsion entrapping polyphenol-rich ethyl acetate fraction against UVB-induced DNA damage in human keratinocyte (HaCaT) cell line. *J Photochem Photobiol B* 2015; 153:127-136.
- [171] PubChem: (1R,35R,38R,55S)-6,7,8,11,12,23,24,27,28,29,37,43,44,45,48,49,50-heptadecahydroxy-2,14,21,33,36,39,54-heptaundecacyclo[33.20.0.04,9.010,19.013,18.016,25.017,22.026,31.038,55.041,46.047,52]pentaentaconta-4,6,8,10,12,16,18,22,24,26,28,30,41,43,45,47,49,51-octadecaene-3,15,20,32,40,53-hexone. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44584733>. Pristupljeno 29. travnja 2023.
- [172] Kang SJ, Choi BR, Kim SH i sur. Beneficial effects of dried pomegranate juice concentrated powder on ultraviolet B-induced skin photoaging in hairless mice. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2017; 14:1023-1036.
- [173] Khan N, Syed DN, Pal HC, Mukhtar H, Afaq F. Pomegranate Fruit Extract Inhibits UVB-induced Inflammation and Proliferation by Modulating NF- $\kappa$ B and MAPK Signaling Pathways in Mouse Skin. *Photochem Photobiol* 2012; 88:1126-1134.
- [174] Chan LP, Tseng YP, Liu C, Liang CH. Fermented pomegranate extracts protect against oxidative stress and aging of skin. *J Cosmet Dermatol* 2021; 00:1–10.
- [175] Li Z, Henning S, Yang J, Heber D. Pomegranate Juice And Extract Provide Photoprotection Against Uv-Induced Erythema And Changes The Skin Microbiome. *Innovation in Aging* 2018; 2:1.

[176] Henning SM, Yang J, Lee RP. pomegranate Juice and extract consumption increases the Resistance to UVB-induced erythema and changes the Skin Microbiome in Healthy Women: a Randomized controlled trial. *Scientific Reports* 2019; 9:14528.

[177] Kasai K, Yoshimura M, Koga T, Arai M, Kawasaki S. Effects of Oral Administration of Ellagic Acid-Rich Pomegranate Extract on Ultraviolet-Induced Pigmentation in the Human Skin. *J Nutr Sci Vitaminol* 2006; 52:383-388.

[178] PubChem: Epicatechin-3-gallate. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/65056>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.

[179] Ghazi S. Do the polyphenolic compounds from natural products can protect the skin from ultraviolet rays? *Results in Chemistry* 2022; 4:100428.

[180] Katyar SK, Afaq F, Azizuddin K, Mukhtar H. Inhibition of UVB-Induced Oxidative Stress-Mediated Phosphorylation of Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways in Cultured Human Epidermal Keratinocytes by Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-gallate. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2001; 176:110-117.

[181] Kim E, Hwang K, Lee J. Skin Protective Effect of Epigallocatechin Gallate. *Int J Mol Sci* 2018; 19:173.

[182] Meeran SM, Akhtar S, Katyar SK. Inhibition of UVB-Induced Skin Tumor Development by Drinking Green Tea Polyphenols Is Mediated Through DNA Repair and Subsequent Inhibition of Inflammation. *Journal of Investigative Dermatology* 2009; 129:1258–1270.

[183] Katyar SK, Vaid M, van Steeg H, Meeran SM. Green Tea Polyphenols Prevent UV-Induced Immunosuppression by Rapid Repair of DNA Damage and Enhancement of Nucleotide Excision Repair Genes. *Cancer Prev Res* 2010; 3:179-189.

[184] Mantena SK, Meeran SM, Elmetts CA, Katiyar SK. Orally Administered Green Tea Polyphenols Prevent Ultraviolet Radiation-Induced Skin Cancer in Mice through Activation of Cytotoxic T Cells and Inhibition of Angiogenesis in Tumors. *J Nutr* 2005; 135:2871-2877.



- [185] Megow I, Darvin ME, Meinke MC, Lademann J. A Randomized Controlled Trial of Green Tea Beverages on the in vivo Radical Scavenging Activity in Human Skin. *Skin Pharmacol Physiol* 2017; 30:225–233.
- [186] Rhodes LE, Darby G, Massey KA i sur. Oral green tea catechin metabolites are incorporated into human skin and protect against UV radiation-induced cutaneous inflammation in association with reduced production of pro-inflammatory eicosanoid 12-hydroxyeicosatetraenoic acid. *British Journal of Nutrition* 2013; 110:891-900.
- [187] Malhomme de la Roche H, Seagrove S, Mehta A, Divekar P, Campbell S, Curnow A. Using natural dietary sources of antioxidants to protect against ultraviolet and visible radiation-induced DNA damage: An investigation of human green tea ingestion. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2010; 101:169–173.
- [188] Heinrich U, Moore CE, De Spirt S, Tronnier H, Stahl W. Green Tea Polyphenols Provide Photoprotection, Increase Microcirculation, and Modulate Skin Properties of Women. *J Nutr* 2011; 141:1202-1208.
- [189] Janjua R, Munoz C, Gorell E i sur. A Two-Year, Double-Blind, Randomized Placebo-Controlled Trial of Oral Green Tea Polyphenols on the Long-Term Clinical and Histologic Appearance of Photoaging Skin. *Dermatol Surg* 2009; 35:1057–1065.
- [190] Charoenchon N, Rhodes LE, Nicolaou A, Williamson G, Watson REB, Farrar MD. Ultraviolet radiation-induced degradation of dermal extracellular matrix and protection by green tea catechins: a randomized controlled trial. *Clinical and Experimental Dermatology* 2022; 47:1314–1323.
- [191] Damian D. Nicotinamide for skin cancer chemoprevention. *Australasian Journal of Dermatology* 2017; 58:174-180.
- [192] PubChem: Nicotinamide. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/936>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.

- [193] Park J, Halliday GM, Surjana D, Damian DL. Nicotinamide Prevents Ultraviolet Radiation-induced Cellular Energy Loss. *Photochemistry and Photobiology* 2010; 86:942-948.
- [194] Monfrecola G, Gaudiello F, Cirillo T, Fabbrocini G, Balato A, Lembo S. Nicotinamide downregulates gene expression of interleukin-6, interleukin-10, monocyte chemoattractant protein-1, and tumour necrosis factor- $\alpha$  gene expression in HaCaT keratinocytes after ultraviolet B irradiation. *Clinical and Experimental Dermatology* 2013; 38:185-188.
- [195] Surjana D, Halliday GM, Damian DL. Nicotinamide enhances repair of ultraviolet radiation-induced DNA damage in human keratinocytes and ex vivo skin. *Carcinogenesis* 2013; 34:1144–1149.
- [196] Thompson BC, Surjana D, Halliday GM, Damian DL. Nicotinamide enhances repair of ultraviolet radiation-induced DNA damage in primary melanocytes. *Experimental Dermatology* 2014; 23:509–528.
- [197] Benavente C, Schnell SA, Jacobson EL. Effects of Niacin Restriction on Sirtuin and PARP Responses to Photodamage in Human Skin. *PLoS* 2012; 7:1-13.
- [198] Thanos SM, Halliday GM, Damian DL. Nicotinamide reduces photodynamic therapy-induced immunosuppression in humans. *Br J Dermatol* 2012; 167:631-636.
- [199] Yiasemides E, Sivapirabu G, Halliday GM, Park J, Damian DL. Oral nicotinamide protects against ultraviolet radiation-induced immunosuppression in humans. *Carcinogenesis* 2009; 30:101-105.
- [200] Philips N, Chalensouk-Khaosatt J, Gonzalez S. Simulation of the Elastin and Fibrillin in Non-Irradiated or UVA Radiated Fibroblasts, and Direct Inhibition of Elastase or Matrix Metalloproteinases Activity by Nicotinamide or Its Derivatives. *J Cosmet Sci* 2018; 69:47-56.
- [201] Chen AC, Maerin AJ, Choy B. A Phase 3 Randomized Trial of Nicotinamide for Skin-Cancer Chemoprevention. *N Engl J Med* 2015; 373:1618-1626.
- [202] Drago F, Ciccaresea G, Cogorno L, Calvi C, Marsano LA, Parodi A. Prevention of non-melanoma skin cancers with nicotinamide in transplant recipients: a case-control study. *Eur J Dermatol* 2017; 27:382-385.

- [203] Liu T, Yang H, Mou Y, Zhang H. Correlation of changes in HIF-1 $\alpha$  and p53 expressions with vitamin B3 deficiency in skin cancer patients. *G Ital Dermatol Venereol* 2019; 154:513-518.
- [204] Chen AC, Martin AJ, Dalziell RA, Halliday GM, Damian DL. Oral nicotinamide reduces transepidermal water loss: a randomised controlled trial. *Br J Dermatol* 2016; 175:1363-1365.
- [205] PubChem: Ascorbic Acid. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54670067#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [206] Mireles-Rocha H, Galindo I, Huerta M i sur. UVB Photoprotection with Antioxidants: Effects of Oral Therapy with d-a-Tocopherol and Ascorbic Acid on the Minimal Erythema Dose. *Acta Derm Venereol* 2002; 82:21–24.
- [207] Pasonen-Seppänen S, Marjukka Suhonen T, Kirjavainen M. Vitamin C enhances differentiation of a continuous keratinocyte cell line (REK) into epidermis with normal stratum corneum ultrastructure and functional permeability barrier. *Histochem Cell Biol* 2001; 116:287–297.
- [208] Lauer AC, Groth N, Haag SF, Darvin ME, Lademann J, Meinke MC. Dose-Dependent Vitamin C Uptake and Radical Scavenging Activity in Human Skin Measured with in vivo Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Skin Pharmacol Physiol* 2013; 26:147–154.
- [209] Placzek M, Gaube S, Kerkmann U. Ultraviolet B-Induced DNA Damage in Human Epidermis Is Modified by the Antioxidants Ascorbic Acid and D- $\alpha$ -Tocopherol. *J Invest Dermatol* 2005; 124:304-307.
- [210] Fuchs J, Kern H. Modulation Of Uv-Light-Induced Skin Inflammation By Dalpha-Tocopherol And L-Ascorbic Acid: A Clinical Study Using Solar Simulated Radiation. *Free Radical Biology & Medicine* 1998; 25:1006–1012.
- [211] Eberlein-König B, Placzek M, Przybilla B. Protective effect against sunburn of combined systemic ascorbic acid (vitamin C) and d- $\alpha$ -tocopherol (vitamin E). *J Am Acad Dermatol* 1998; 38:45-8.

- [212] De Spirt S, Siesa H, Tronnierc H, Heinrich U. An Encapsulated Fruit and Vegetable Juice Concentrate Increases Skin Microcirculation in Healthy Women. *Skin Pharmacol Physiol* 2012; 25:2–8.
- [213] PubChem: Vitamin E. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14985>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [214] Nakayama S, Katoh EM, Tsuzuki T, Kobayashi S. Protective Effect of  $\alpha$ -Tocopherol-6-O-Phosphate Against Ultraviolet B-Induced Damage in Cultured Mouse Skin. *J Invest Dermatol* 2003; 121:406-411.
- [215] Larsson P, Öllinger K, Rosdahl I. Ultraviolet (UV) A- and UVB-induced redox alterations and activation of nuclear factor- $\kappa$ B in human melanocytes-protective effects of  $\alpha$ -tocopherol. *British Journal of Dermatology* 2006; 155:292–300.
- [216] McArdle F, Rhodes LE, Parslew RAG. Effects of oral vitamin E and b-carotene supplementation on ultraviolet radiation–induced oxidative stress in human skin. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1270–1275.
- [217] Kannan S, Lim HW. Photoprotection and vitamin D: a review. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2014; 30:137–145.
- [218] Kechichian E, Ezzedine K. Vitamin D and the Skin: An Update for dermatologists. *Am J Clin Dermatol* 2017; 19:223-235.
- [219] Pub Chem: Cholecalciferol. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280795#section=2D-Structure>. Pristupljeno 26. ožujka 2023.
- [220] Di Rosa M, Malaguarnera G, De Gorio C, Palumbo M, Nunnari G, Malaguarnera L. Immunomodulatory effects of vitamin D<sub>3</sub> in human monocyte and macrophages. *Cellular Immunology* 2012; 280:36-43.

- [221] Chaiprasongsuk A, Janjetovic Z, Kim TK i sur. Protective effects of novel derivatives of vitamin D<sub>3</sub> and lumisterol against UVB-induced damage in human keratinocytes involve activation of Nrf2 and p53 defense mechanisms. *Redox Biology* 2019; 24:1-19.
- [222] Gupta R, Dixon KM, Deo SS i sur. Photoprotection by 1,25 Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> Is Associated with an Increase in p53 and a Decrease in Nitric Oxide Products. *Journal of Investigative Dermatology* 2007; 127:707–715.
- [223] Slominski AT, Kim TK, Janjetovic Z. 20-Hydroxyvitamin D<sub>2</sub> is a noncalcemic analog of vitamin D with potent antiproliferative and prodifferentiation activities in normal and malignant cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 300:526–541.
- [224] Scott JF, Das LM, Ahsanuddin S i sur. Oral vitamin D rapidly attenuates inflammation from sunburn: an interventional study. *J Invest Dermatol* 2017; 137:2078-2086.
- [225] Bullock TA, Negrey J, Hu B, Warren CB, Hasan T, Maytin EV. Significant improvement of facial actinic keratoses after blue light photodynamic therapy with oral vitamin D pretreatment: An interventional cohort-controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 2022; 87:80-86.
- [226] Morse NL, Reid AJ, St-Onge M. An open label clinical trial assessing the efficacy and safety of Bend Skincare Anti-Aging Formula on minimal erythema dose in skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2018; 34:152-161.
- [227] Hu C, Huang Y, Luo P, Yang Y. Effect of antioxidants coenzyme Q10 and β-carotene on the cytotoxicity of vemurafenib against human malignant melanoma. *Oncology Letters* 2021; 21:208.
- [228] Choi BS, Song HS, Kim HR i sur. Effect of Coenzyme Q10 on Cutaneous Healing in Skin-incised Mice. *Arch Pharm Res* 2009; 32:907-913.
- [229] Inuia M, Ooea M, Fujiib K, Matsunakaa H, Yoshidac M, Ichihashi M. Mechanisms of inhibitory effects of CoQ10 on UVB-induced wrinkle formation in vitro and in vivo. *BioFactors* 2008; 32:237-243.

- [230] Žmitek K, Pogačnik T, Mervic Lj, Žmitek J, Pravst I. The effect of dietary intake of coenzyme Q10 on skin parameters and condition: Results of a randomised, placebo-controlled, double-blind study. *Biofactors* 2017; 43:132-140.
- [231] Žmitek K, Žmitek J, Rogl Butina M, Pogačnik T. Effects of a Combination of Water-Soluble Coenzyme Q10 and Collagen on Skin Parameters and Condition: Results of a Randomised, Placebo-Controlled, Double-Blind Study. *Nutrients* 2020; 12:618.
- [232] Thomsen BJ, Chow EY, Sapijaszko MJ. The Potential Uses of Omega-3 Fatty Acids in Dermatology: A Review. *J Cutan Med Surg* 2020; 24:481-494.
- [233] Rhodes LE, O'Farrell S, Jackson MJ, Friedmann PS. Dietary fish oil supplementation in humans reduces UVB-erythema sensitivity but increases epidermal lipid peroxidation. *J Invest Dermatol* 1994; 103:151-154.
- [234] Pilkington SM, Rhodes LE, Al-Aasswad NMI, Massey KA, Nicolaou A. Impact of EPA ingestion on COX- and LOX-mediated eicosanoid synthesis in skin with and without a pro-inflammatory UVR challenge – Report of a randomised controlled study in humans. *Mol Nutr Food Res* 2014; 58:580-590.
- [235] Rhodes LE, Shahbakhti H, Azurdia RM i sur. Effect of eicosapentaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated fatty acid, on UVR-related cancer risk in humans. An assessment of early genotoxic markers. *Carcinogenesis* 2003; 24:919–925.
- [236] Peguet-Navarro J, Dezutter-Dambuyant C, Buetler T. Supplementation with oral probiotic bacteria protects human cutaneous immune homeostasis after UV exposure-double blind, randomized, placebo controlled clinical trial. *Eur J Dermatol* 2008; 18:504-11.
- [237] Piyavatin P, Chaichalotornkul S, Nararatwanchai T, Bumrungpert A, Saiwichai T. Synbiotics supplement is effective for Melasma improvement. *J Cosmet Dermatol* 2021; 00:1–10.

[238] Ogawa M, Saiki A, Matsui Y i sur. Effects of oral intake of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 (SBL88™) on dry skin conditions: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Experimental And Therapeutic Medicine* 2016; 12:3863-3872.

## Kratice

$^1\text{O}_2$  - atomarni kisik

8-OHdG - 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoksigvanozin

12-HETE – 12-hidroksieikazotetraenska kiselina

AhR – receptor arilnih ugljikovodika

Akt – protein kinaza B

AMP - adenzin monofosfat

AP-1 – aktivacijski protein 1

ApoA1 - apolipoproteina A1

ARE - antioksidacijski element odgovora

ARPE-19 – (od eng. arising retinal pigment epithelium)

ATF - aktivacijski transkripcijski faktori

ATP – adenzin trifosfat

Bcl2 – limfom B stanica

BAD - Bcl2 povezanog agonista proteina stanične smrti (od eng. Bcl-2-associated death promoter)

BCDO2 -  $\beta,\beta$ -karoten-9',10'-dioksidgenaza

BCMO1 -  $\beta,\beta$ -karoten-15,15'-monooksigenaza 1

BRAF - B-Raf proto-onkogen

CD31 - klaster diferencijacije 36

CD36 - klaster diferencijacije 36

CD4 – klaster diferencijacije 4



CoQ<sub>10</sub>H - radikal semikinon

CoQ<sub>10</sub>H<sub>2</sub> – reducirani oblik koenzima Q<sub>10</sub>

COX-2 - ciklooksigenaza-2

CPD – 6-4 ciklobutan pirimidinski dimeri

CRP – C reaktivni protein

DHA - dokozaheksaensku kiselina

DHI - 5,6-dihidroksindol

DHICA - 5,6-dihidroksindol-2-karboksilne kiseline

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

EFSA - Europska agencija za sigurnost hrane

EGF - epidermalnog faktora rasta

Elk1 - protein 1 sličan transkripcijskom faktoru ETS

EPA - eikozapentaensku kiselinu

ERK1/2 - kinaza regulirana izvanstaničnim signalom 1/2

FDA – Američka Agencija za hranu i lijekove (od eng. Food and drug administration)

GADD45α – (od eng. growth arrest and DNA-damage-inducible protein)

GPCR - G-protein vezani receptor

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - voda

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - vodikov peroksid

HCOR – aldehidi

HDL – lipoprotein velike gustoće (od eng. high density lipoprotein)

HIF-1 $\alpha$  - faktor 1 $\alpha$  inducibilan hipoksijom

HO-1 – hem-oksigenaza 1

HOBr - hipobromna kiselina

HOCl - hipokloritna kiselina

ICAM-1 - intracelularne adhezijske molekule 1

IFN- $\gamma$  - interferon  $\gamma$

IKK – kinaza inhibitornog proteina kapa-B

IL-x – interleukin-x, gdje x označava broj

iNOS - inducibilne sintetaze dušikovog oksida

I- $\kappa$ B - inhibitorni protein kapa-B

IRA – infracrveno A zračenje

IRB – infracrveno B zračenje

IRC – infracrveno C zračenje

JAK - Janus kinaze

JAK-STAT - put Janus kinaze – transduktor signala i aktivator transkripcije

JNK - c-Jun-N-terminalne kinaze

JNKK - JNK kinaze

JNKKK – kinaze JNK kinaza

Keap-1 - protein 1 povezan s ECH-om sličan Kelchu

Ki-67 - nuklearni antigen u proliferaciji stanica

LDL – lipoprotein niske gustoće (od eng. low density lipoprotein)

M1 – makrofazi M1

M2 – makrofazi M2

MAPK – mitogenom aktivirane protein kinaze

MCP-1 - monocitni kemovezujući protein

MDA – malonaldehid

MED - minimalna eritemska doza

MelasQol - kvaliteta života s melazmom

mMASI - indeks veličine i jačine melazme

MMP-x – matriksne metaloproteinaze-x, gdje x označava broj

mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina

MSK-1 - mitogenom i stresom aktivirane protein kinaze

NAD / NAD<sup>+</sup> - nikotinamid adenin dinukleotid

NADP / NAD(P)H - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NF1 - neurofibromin-1

NF-κB - nuklearni faktora kappa-B

NK stanice – prirodne stanice ubojice (od eng. natural killer cells)

NO – dušikov oksid

NO· - radikal dušikovog oksida

Nox - adenin dinukleotid fosfat oksidaza

NQO1 - NAD(P)H:ubikvinon oksidoreduktaza

NRAS –neruroblastom-RAS

Nrf2 - signalne transdukcije i aktivacije transkripcije nuklearnog eritroidu-2 sličnog faktora

O<sub>2</sub> - kisik

O<sub>2</sub><sup>·-</sup> - superoksidni anion

O<sub>3</sub> - ozon

OH<sup>·</sup> - hidroksil-radikal

ONOO<sup>-</sup> - peroksinitritni anion

PA – razred zaštite od UVA zračenja (od eng. protection grade of UVA)

PARP-1 - poli-ADP-riboza polimeraza 1

PCNA – jezgrin antigen proliferirajućih stanica (od eng. proliferating cell nuclear antigen)

PDGF - trombocitni faktor rasta

PI3K/AKT - put fosfoinozitol-3-kinaze/ protein kinaza B

PPAR – proliferator peroksisoma

PPD – trajno tamnjenje pigmenta (od eng. persistent pigment darkening)

RNA – ribonukleinska kiselina

RO<sup>·</sup> - alkoksi-radikal

ROO<sup>·</sup> - peroksi-radikal

ROOH - organski peroksidi

RPE - retinalni pigmentni epitel (od eng. retinal pigment epithelium)

SIRT - sirtuin

SPF – faktor zaštite od sunca (od eng. sun protection factor)

SR-B1 - receptor čistač klase B tipa 1

STAT 3 - transduktor signala i aktivator transkripcije 3

$t_{1/2}$  – poluvrijeme eliminacije

TiO<sub>2</sub> - titanijev dioksid

TEWL – transepidermalni gubitak vode (od eng. transepidermal water loss)

TGF- $\beta$  – transformirajući čimbenik rasta  $\beta$

Th – pomoćničke T stanice

TIMP – tkivni inhibitori matriksnih metaloproteinaza

TNC - likopenom bogata pasta rajčice kompleks nutrijenata

TNF- $\alpha$  – faktor nekroze tumora  $\alpha$

Treg - regulatorne T stanice

UPF – faktor zaštite od ultraljubičastih zraka (od eng. ultraviolet protection factor)

UV – ultraljubičasto

UVA - ultraljubičasto zračenje A spektra

UVB - ultraljubičasto zračenje B spektra

UVC – ultraljubičasto zračenje C spektra

VCAM-1 - protein adhezije vaskularnih stanica-1

VEGF – vaskularni endotelni faktor rasta

VLDL – lipoproteini vrlo male gustoće (od eng. very low density lipoproteins)

XO - ksantin oksidaza

## 7 Životopis

Dejana Škrinjar, mag. pharm.

### OSNOVNI PODACI

Državljanstvo: hrvatsko

Kontakt telefon: (+385) 917919584

Datum rođenja: 23/01/1989

Spol: Žensko

E-adresa: dejana.skrinjar@gmail.com

Adresa: Miroslava Krleže 2, 48000 Koprivnica (Hrvatska)

### OBRAZOVANJE

Magistra farmacije

Farmaceutsko - biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu [ 2008 – 2014 ]

Adresa: Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb (Hrvatska)

### RADNO ISKUSTVO

Voditeljica ljekarne

Ljekarne Koprivnica [ 03/2022 – Trenutačno ]

Mjesto: Koprivnica