

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za kemiju

Lucia Mrše

**ULOGA RETINOIDA U ZDRAVLJU KOŽE:
MEHANIZMI, DOBROBITI I BUDUĆI
SMJEROVI**

Završni rad

Split, 2024.

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za kemiju

Lucia Mrše

**ULOGA RETINOIDA U ZDRAVLJU KOŽE:
MEHANIZMI, DOBROBITI I BUDUĆI
SMJEROVI**

Završni rad

Split, 2024.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom mentorice izv. prof. dr. sc. Viljemke Bučević Popović, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnice biologije i kemije.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

ULOGA RETINOIDA U ZDRAVLJU KOŽE: MEHANIZMI, DOBROBITI I BUDUĆI SMJEROVI

Lucia Mrše

Retinoidi, sintetski ili prirodni derivati vitamina A, koriste se u tretiranju promijenjenog izgleda kože, koji nastaje zbog intrinzičnog i ekstrinzičnog starenje ili različitih kožnih oboljenja poput akni. Kako bi došli do ciljnih stanica, moraju proći pretvorbe iz jednog oblika u drugi, a zatim vezani za stanične retinoid-vezujuće proteine (CRABP) doći do nuklearnih receptora. Retinol, jedan od derivata vitamina A, zbog svoje lipofilne prirode prolazi do epidermisa i dermisa. Povećava debljinu epidermisa, proliferaciju keratinocita, broj dermalnih proteina izvanstaničnog matriksa i broj krvnih žila te tako poboljšava nepravilan i oštećen izgled kože. Također, retinoidi koji su se pokazali učinkovitima za liječenje akni su trifaroten i oralni izotretinoin. Ponekad primjena retinoida, osim pozitivnih utjecaja, uzrokuje nuspojave. Neke od njih su: svrbež, peckanje, eritem, suhoća i ljuskanje. Kako bi izbjegli negativne posljedice korištenja retinoida znanstvenici su u potrazi za novim unaprijeđenim formulacijama retinoida kao što su nanočestice, liposomi, mikroemulzije i mikrospužve.

Ključne riječi: retinoidi, retinoična kiselina, retinol, starenje, trifaroten, izotretinoin, nuspojave retinoida, nanoformulacije

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

Rad sadrži: 24 stranice, 8 slika, 28 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentor: Dr. sc. Viljemka Bučević Popović, izvanredni profesor

Ocjenjivači: Dr. sc. Viljemka Bučević Popović, izvanredni profesor

Dr. sc. Stjepan Orhanović, izvanredni profesor

Dr. sc. Matilda Šprung, izvanredni profesor

Rad prihvaćen: 18. rujna 2024.

Basic documentation card

University of Split

B. Sc. Thesis

Faculty of Science

Department of Chemistry

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

THE ROLE OF RETINOIDS IN SKIN HEALTH: MECHANISMS, BENEFITS AND FUTURE DIRECTIONS

Lucia Mrše

Retinoids, synthetic or natural derivatives of vitamin A, are used to address the changed appearance of the skin, which occurs due to intrinsic and extrinsic aging or various skin conditions such as acne. To reach the target cells, they must undergo conversion from one form to another, and then bound to cellular retinoid binding protein (CRABP) reach nuclear receptors. Retinol, one of the derivatives of vitamin A, penetrates the epidermis and dermis due to its lipophilic nature. It increases the thickness of the epidermis, the proliferation of keratinocytes, the number of dermal extracellular matrix proteins and the number of blood vessels, thus improving the irregular and damaged appearance of the skin. Also, retinoids that have shown a positive impact on the appearance of skin with acne are trifarotene and oral isotretinoin. Sometimes the use of retinoids, in addition to positive effects, causes side effects. Some of them are itching, burning, erythema, dryness and scaling. To avoid the negative consequences of using retinoids, scientists are looking for new, more stable formulations of retinoids such as nanoparticles, liposomes, microemulsions and microsponges.

Keywords: retinoids, retinoic acid, retinol, aging, trifarotene, isotretinoin, retinoid side effects, nanoformulations

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split

Thesis consists of: 24 pages, 8 pictures, 28 references. Original language: Croatian.

Mentor: Viljemka Bučević Popović, Ph.D. Associate Professor

Reviewers: Viljemka Bučević Popović, Ph.D. Associate Professor

Stjepan Orhanović, Ph.D. Associate Professor

Matilda Šprung, Ph.D. Associate Professor

Thesis accepted: September 18, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. RAZRADA TEME	2
2.1 Struktura i generacije retinoida	2
2.2 TRANSPORT RETINOIDA I NUKLEARNI RECEPTORI	4
2.2.1 Transport retinoida do ciljnih stanica	4
2.2.2 Nuklearni receptori	5
2.2.3 Nedostatak retinoične kiseline	7
2.3 STRUKTURA I STARENJE KOŽE	7
2.3.1 Stanjivanje epidermisa	8
2.3.2 Utjecaj starenja na dermis	8
2.3.3 Autofagija	9
2.4 SVOJSTVA RETINOLA PROTIV STARENJA	9
2.4.1 Utjecaj retinola na debljinu epiderme, keratinocite, dermalne stromalne stanice i broj krvnih žila	10
2.4.2 Utjecaj retinola na dermalne proteine ekstracelularnog matriksa	11
2.4.3 Utjecaj retinola na keratinocite, dermalne fibroblaste, organizaciju kolagenskih vlakana i glatkoću dermisa	13
2.5 TOPIKALNA PRIMJENA TRIFAROTENA I NJEGOV UTJECAJ NA AKNE	13
2.6 ORALNI IZOTRETIONIN	15
2.7 RETINOIDI I NJIHOVA VAŽNOST U UROĐENOM IMUNITETU KOŽE	15
2.8 RJEŠAVANJE UPALNIH DERMATOLOŠKIH STANJA CILJANJEM RECEPTORA SLIČNIH TOLLU (TLR)	16
2.9 NUSPOJAVE RETINOIDA	17
2.10 NOVI SUSTAVI DOSTAVE RETINOIDA	18
2.10.1 Nanočestice	18
2.10.2 Mikroemulzije	19
2.10.3 Liposomi	19
2.10.4 Mikro-spužve	20
3. ZAKLJUČAK	20
4. LITERATURA	22

1. UVOD

Retinoidi, sintetski ili prirodni derivati vitamina A, prepoznati su po svojim ljekovitim svojstvima već u vrijeme starih Egipćana koji su koristili jetru kao izvor retinoida za liječenje noćnog sljepila, simptoma hipovitaminoze A (Wolf, 1996). Nasuprot tome, arktičke civilizacije izbjegavale su jesti jetru polarnog medvjeda kako bi izbjegle hipervitaminozu A (Rodahl i Moore 1943). Jetra je mjesto u kojem se skladišti većina retinoida, čak 80-85%. Dvije glavne vrste stanica, hepatociti i jetrene zvjezdaste stanice mjesto su njihova skladištenja i metabolizma. Hepatociti su također mjesto sinteze retinol-vezujućeg proteina 4 (RBP4), proteina važnog za transport retinola (Nilsson, 2020.).

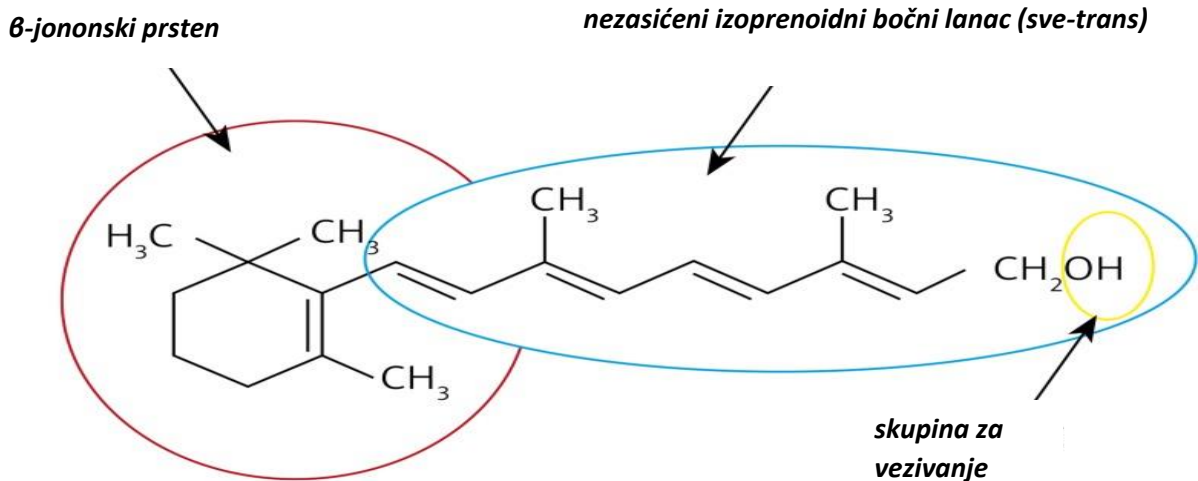
Ljudska koža je organ koji osim što prolazi kroz proces starenja, izložen je i raznim vanjskim utjecajima poput UV-zračenja, što dovodi do promijenjenog izgleda kože tijekom godina. Retinoidi su zadnjih nekoliko desetljeća zauzeli ključnu ulogu u rješavanju takvih problema te su se počeli koristiti u kozmetičkim tretmanima i liječenju ozbiljnih kožnih oboljenja kao što su akne i psorijaza. Kako s godinama dolazi do smanjenja kolagena i epidermalnih matičnih stanica što slabi funkciju kože te ona lakše gubi vodu, koža je sklonija razvoju raka, gubi fini izgled bez bora, pojavljuju se hiperpigmentacije te sporije zacjeljuje. S obzirom da se velika važnost pridaje fizičkom izgledu, a znakovi starenja su nešto što većinu ljudi muči, retinoidi su postali neizbježan dio rutine u njezi ostarjele kože i sve su češći sastojci kozmetičkih proizvoda. Njihovo djelovanje temelji se na vezanju za receptore retionične kiseline i njihovu aktivaciju. Blaži oblici poput retinil-estera, retinola i retinaldehida dio su kozmetičkih proizvoda, a ostali jači oblici retinoida ipak se moraju izdavati na recept s obzirom na njihove jake nuspojave.

Cilj ovog rada je predstaviti molekularne mehanizme djelovanja retinoida i prednosti koje nam pružaju, te ukazati na dobrobiti njihove primjene kada se koriste ispravno i uz liječnički nadzor.

2. RAZRADA TEME

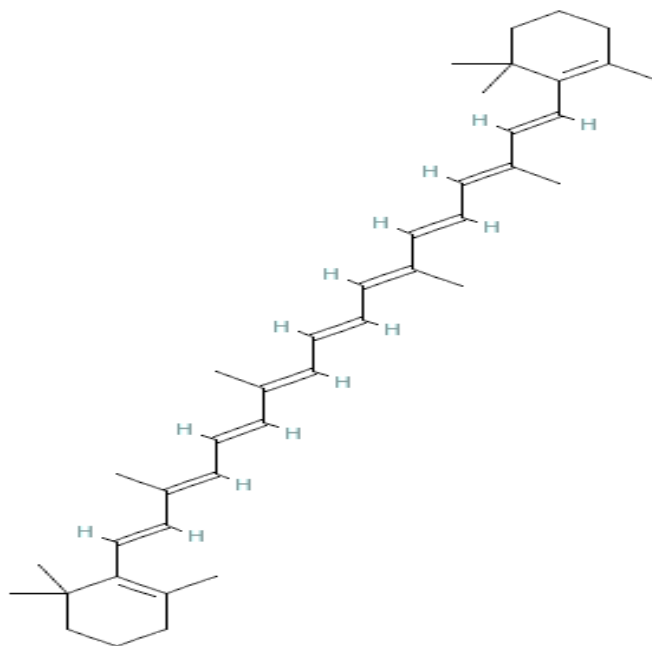
2.1 Struktura i generacije retinoida

Retinoidi su spojevi koji su izvedeni iz vitamina A. Metaboliti vitamina A su retinaldehid i retinoična kiselina. Vitamin A ljudski organizma ne može samostalno stvoriti, stoga ga treba unositi prehranom. Prehranom ga unosimo u dva oblika, kao vitamin A (retinol) i provitamin A (karotenoidi) koji se pohranjuju u jetri. Prema IUPAC-u, retinoidi su spojevi sa četiri izoprenske jedinice. Retinol, retinal i retinoična kiselina pripadaju retinoidima s nearomatskim fragmentom β -jonona u svojoj molekuli (Slika 1.). Umjesto cikloheksanskog, sintetski retinoidi imaju benzenski prsten.



Slika 1. Kemijska struktura retinola (vitamina A) (Slika preuzeta i prilagođena iz Zasada, M., & Budzisz, E. (2019). Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. *Advances in Dermatology and Allergology*, 36(4), 392–397.)

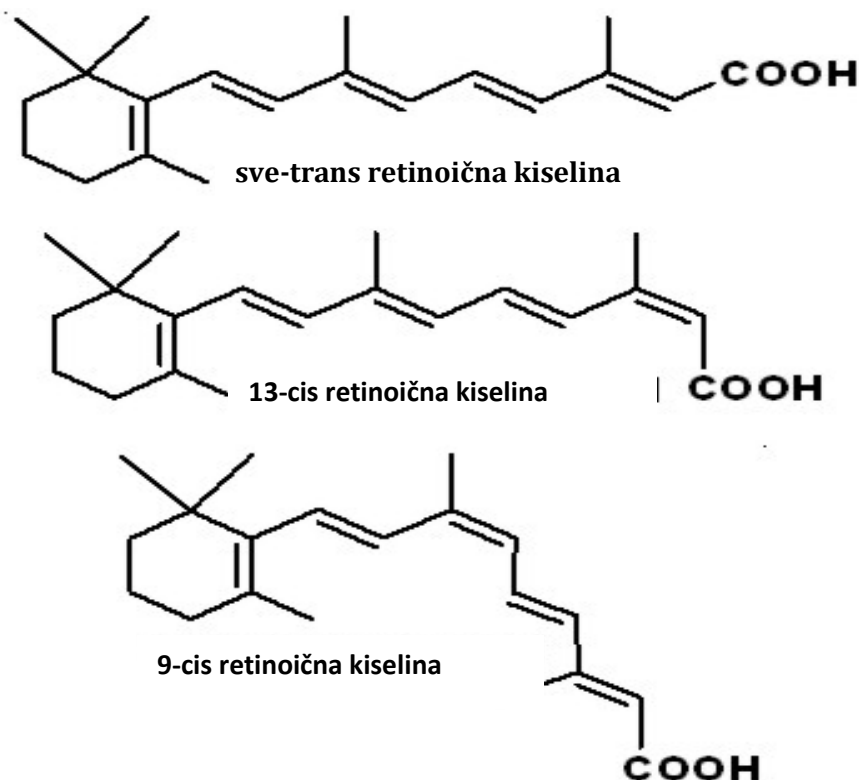
Glavni izvori vitamina A su jetra, mlijeko, mliječni proizvodi, žumanjak i riba. U biljkama se nalazi u obliku karotenoida (Slika 2.)



Slika 2. Kemijska struktura beta-karotena (Slika preuzeta s izvora:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Beta-Carotene>)

Retinoidi su spojevi sa širokom primjenom u liječenju različitih bolesti, a samo neke od njih su psorijaza, fotostarenje, hiperpigmentacija i *acne vulgaris*. Retinoidi se prema selektivnosti receptora i molekularnoj strukturi dijele u 4 generacije, a topikalni retinoidi se dijele u 6 klasa. Klase topikalnih retinoida su tretinoin (sve-trans retinoična kiselina), adapalen, tazaroten, trifaroten, alitretinoin i beksaroten. Adapalen, tazaroten i trifaroten su sintetski retinoidi (Motamedi i sur., 2020). Prvoj generaciji pripadaju monoaromatski spojevi, retinoidi koji djeluju neselektivno i tu ubrajamo retinol i njegove derivate (tretinoin, izotrenoin, alitretinoin, retinal). Retinoična kiselina (RA, engl. *retinoic acid*) postoji u nekoliko izoformi, a najpoznatije su sve-trans retinoična kiselina (ATRA, engl. *all-trans retinoic acid*) ili tretinoin i 9-cis retinoična kiselina (9cRA, engl. *9-cis retinoic acid*) ili alitretinoin (Slika 3.). Tretinoin (sve-trans retinoična kiselina) je prvi topikalni retinoid koji je razvijen, a pomaže u stanjima kao što je hiperpigmentacija, *acne vulgaris* i fotostarenje. Drugoj generaciji pripadaju monoaromatski sintetski retinoidi (etretinat, acitretin), kod kojih je cikloheksan zamijenjen benzenskim prstenom. Treću generaciju čine također sintetski poliaromatski retinoidi (arotinoid, adapalen, tazaroten), karakteristično selektivni prema receptoru. Adapalen je najmanje iritabilan i najmanje je sklon fotodegradaciji. Tazaroten je jedini retinoid korišten kod liječenja plak psorijaze. Četvrtoj generaciji pripada trifaroten selektivan za RAR receptore (Mukherjee i sur., 2006).



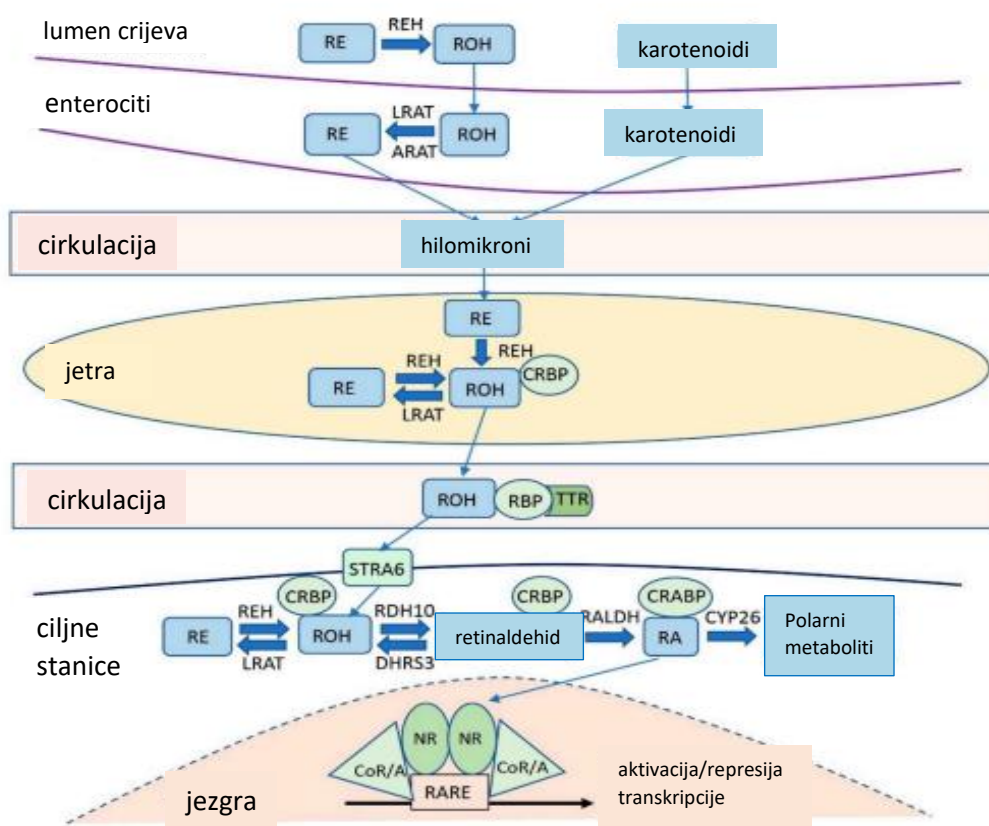
Slika 3. Geometrijski izomeri retinoične kiseline (Slika preuzeta i prilagođena iz El-Metwally T.H., Pour P.M. (2007) The retinoid induced pancreatic cancer redifferentiation-apoptosis sequence and the mitochondria: a suggested obligatory sequence of events. Journal of the pancreas, 8(3), 268–278)

2.2 TRANSPORT RETINOIDA I NUKLEARNI RECEPTORI

2.2.1 Transport retinoida do ciljnih stanica

Retinoidi se mogu koristiti kao sastojci kozmetičkih proizvoda ili se izdavati na recept kao lijek. Razlika je u jačini djelovanja. S obzirom da su retinoidi lipofilni spojevi, potrebni su specijalizirani transportni mehanizmi za njihov ulazak i djelovanje u stanici. Retinil-esteri (RE) se u lumenu crijeva pretvaraju u retinol (ROH), koji se nakon ulaza u enterocite ponovno pretvara u RE (Slika 4.). RE odlazi dalje u cirkulaciju putem hilomikrona do cilja. Ostaci hilomikrona prelaze u jetru, gdje se RE hidrolizira u ROH. Retinol se zadržava u jetri ili vezan za retinol-vezujuće proteine (RBP, engl. *retinol binding protein*) nastavlja transport krvlju. Kompleks ROH-RBP se zatim specifično veže za protein transtiretin odnosno prealbumin što stabilizira retinol i omogućuje njegovu distribuciju po tijelu. Kada uđe u stanicu, retinol se odvoji od RBP i veže za stanični protein koji veže retinol, CRBP (engl. *cellular retinol binding*

protein). Postoje četiri skupine CRBP; CRBP I, CRBP II, CRBP III i CRBP IV. U ciljnim se stanicama ROH pretvara u retinaldehid uz pomoć retinol-dehidrogenaze 10 (RDH10). Retinaldehid dalje u stanici ima nekoliko puteva: može se nepovratno oksidirati u retinoičnu kiselinu retinalnim dehidrogenazama (RALDH) ili vratiti u oblik ROH pomoću retinaldehid-reduktaze 3 (DHRS3). RA se zatim može razgraditi pomoću enzima citokrom P450-hidroksilaze 26 (CYP26) ili se može prebaciti u jezgru pomoću staničnih RA-vezujućih proteina CRABPI ili CRABPII (engl. *cellular retinoid binding proteins*) i vezati se za nuklearne receptore (NR) (Slika 4.).



Slika 4. Transport i metabolizam retinoida (Slika preuzeta i prilagođena iz Nilsson C., 2020, *Retinoids in Mammalian Reproduction, with an Initial Scoping Effort to Identify Regulatory Methods*, Nordic Council of Ministers)

2.2.2 Nuklearni receptori

Postoje dvije vrste receptora retinoida; RAR (engl. *retinoic acid receptor*) te RXR (engl. *retinoid X receptor*). RAR receptori vežu dva prirodna derivata vitamina A, sve-trans retinoičnu kiselinu i 9-cis retinoičnu kiselinu, ali i sintetske lokalne retinoide. RXR su receptori koji vežu

samo 9-cis retinoičnu kiselinu, reksinoide i steroide. RXR i RAR tvore heterodimer, a RXR može homodimerizirati ili heterodimerizirati s RAR, receptorima vitamina D3 i receptorima hormona štitnjače. Receptor se veže za specifične elemente DNA poznate kao RARE (engl. *retinoic acid response elements*). Nalaze se u promotorskoj regiji gena reguliranog retinoidima. Heterodimer zahtijeva jedino vezanje tretinoina kako bi se vezao za RARE i započeo transkripciju. Prisutnost 9-cis retinoične kiseline, liganda RXR receptora, ne dovodi do dodatne aktivacije gena, ali je prisustvo RXR nužno kako bi se nastao funkcionalni RAR/RXR heterodimer (Mukherjee i sur., 2006).

U odsustvu liganda, ne dolazi do ekspresije gena. RXR ili dimer RXR/RAR regrutiraju kompleks histonske deacetilaze (HDAC, engl. *histone deacetylase*) i korepresora, pri čemu ulogu korepresora mogu imati negativni koregulator (N-CoR) ili posrednik utišavanja za retinoidne i receptore hormona štitnjače (SMRT, engl. *silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors*). HDAC utječe na utišavanje ekspresije gena tako što uklanja acetilne skupine s histona i uzrokuje kondenzaciju kromatina koja onemogućuje vezanje drugih čimbenika. U prisustvu liganda, RAR promijeni strukturu, korepresorski kompleks se odvoji, a vežu se koaktivatori s histon-acetil transferazom (HAT, engl. *histone acetyltransferase*) što dovodi do dekondezacije kromatina. Transkripciju dodatno aktivira vezanje proteina kao što su DRIP (engl. *vitamin D receptor interacting protein*), TRAP (engl. *thyroid hormone receptor-associated proteins*) i ARC (engl. *activator-recruited complex*). Sve-trans retinoična kiselina (ATRA) može osim genomskim načinom, preko RAR receptora, djelovati i negenomski, aktivirajući višestruke signalne kinazne puteve te imati transkripcijske učinke putem transkripcijskih faktora koji se nalaze na kraju signalnih kaskada (Szymański i sur., 2020).

Receptori se dijele na podtipove; RAR α , RAR β , RAR γ , RXR α , RXR β i RXR γ . RAR γ čini gotovo 90% RAR-ova, a RXR α gotovo 90% RXR-ova u ljudskoj epidermi. Stoga je djelovanje retinoida na procese u koži regulirana uglavnom RAR γ /RXR α heterodimerom.

Podtipovi receptora razlikuju se po afinitetu za različite retinoide što dovodi do razlike u potenciji, podnošljivosti i djelotvornosti retinoida. RAR α i RAR β nalaze se u većini tkiva, dok se RAR γ pretežno eksprimira u koži. Slično, RXR α i RXR β su široko rasprostranjeni, dok se RXR γ izražava u mišićima i mozgu te tijekom diferencijacije hrskavice i epitelnih stanica. RXR γ nije samo izražen u središnjem živčanom sustavu, već i prepoznaje lipide i sukladno tome modulira ekspresiju gena (Olivares i sur., 2016)

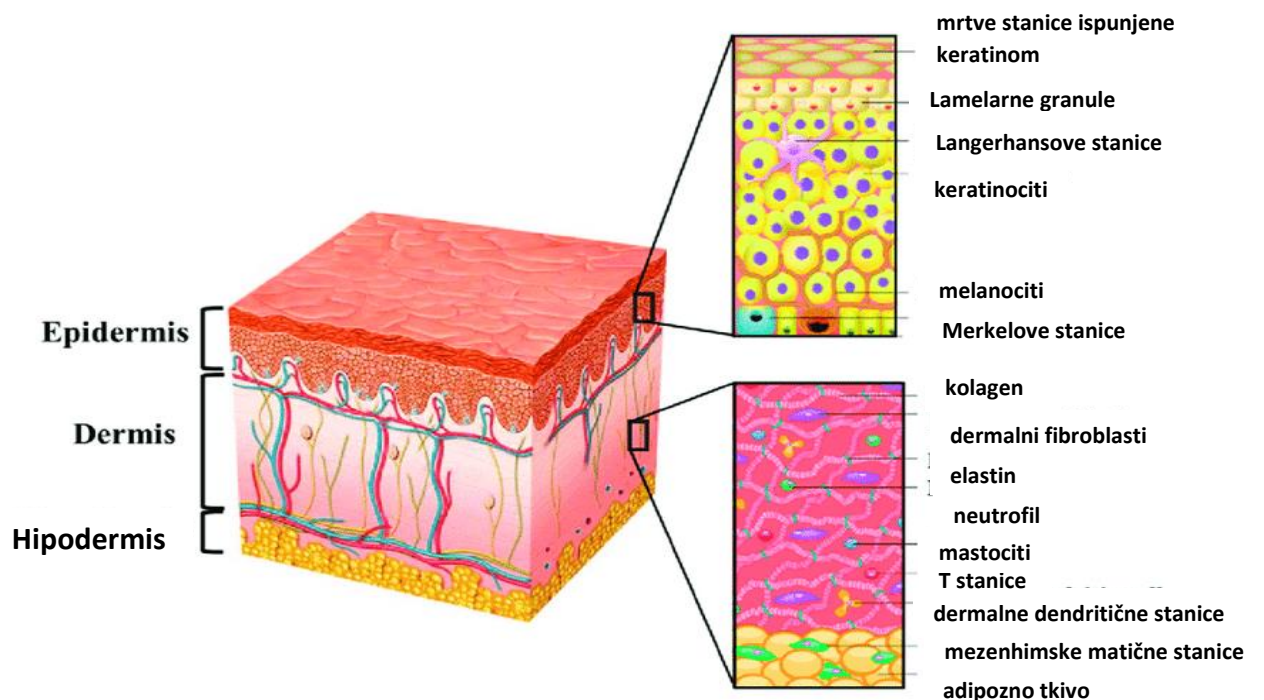
2.2.3 Nedostatak retinoične kiseline

Vrijeme poluživota RA nakon primjene je 1 h jer enzimi iz skupine citokrom P450 poznatiji kao CYP26 hidrosiliraju RA i uzrokuju njenu inaktivaciju. Nedostatak ATRA zbog djelovanja CYP dovodi do hiperkeratinizacije te deskvamacije kože što je povezano s aknama, psorijazom i ihtiozom. Razvijene su neke terapije za poboljšanje tih stanja koje se temelje na povećanju razine ATRA. Pri tome se koriste inhibitori metabolizma ATRA tzv. agensi za blokiranje metabolizma retinoične kiseline (RAMBA). Ovi spojevi inhibiraju ATRA-4-hidroksilaze ovisne o citokromu P450 i na taj način povećavaju razine ATRA u koži. U poznatije RAMBA spojeve ubraja se liarozol, koji dokazano pokazuje antitumorska svojstva kod raka prostate i dojke, ali je ključan i u liječenju psorijaze i ihtioze (Szymański i sur., 2020).

2.3 STRUKTURA I STARENJE KOŽE

Koža ima dva sloja: gornji sloj, epidermis i donji, dermis. Epidermis je većim dijelom građen od keratinocita koji tvore keratin od kojeg je izgrađen rožnati sloj kože (*stratum corneum*), zaštitna epidermalna barijera. *Stratum corneum* prvi je sloj u kontaktu vanjskim čimbenicima i samim time ključan za održavanje lijepog izgleda kože. Sastoji se od nekoliko slojeva korneocita, keratinocita s rožnom ovojnicom, bez citoplazme i jezgre, unutarstaničnih lipidnih lamela i s korneodesmosomima. Dermis pretežito sačinjavaju proteini poput fibronektina, proteoglikana, elastina i kolagena, koji skupa čine izvanstanični matriks (ECM, engl. *extracellular matrix*) (Slika 5.).

Struktura kože se mijenja kako starimo. Osim intrinzičnog ili kronološkog starenja, koje je posljedica godina, starenja stanica i skraćivanja telomera, postoji i ekstrinzično starenje ili fotostarenje, prvenstveno uzrokovano UV-zračenjem. Zajedničkim djelovanjem, oba oblika starenja utječu na pojavu prvih znakova starenja koji se pojavljuju na regijama vrata, potkoljenica, podlaktica i lica. Na tim dijelovima dolazi do stanjivanja epidermisa i dermisa. Stanjivanje je karakterizirano smanjenim brojem keratinocita i dermalnih stromalnih stanica. Koža postepeno gubi kolagen, lakše gubi vodu, povećava se krhkost, slabi vaskularna potpora, lošije zacjeljuju rane te je sklonija razvoju raka (Quan, 2023).



Slika 5. Struktura ljudske kože (Slika preuzeta i prilagođena iz Tavakoli S., & Klar A. S. (2020).

Advanced Hydrogels as Wound Dressings, *Biomolecules* 10(8), 1169)

2.3.1 Stanjivanje epidermisa

Stanjivanje epidermisa je kaskada reakcija koja započinje smanjenom ekspresijom kolagena 17 (COL17A1), produkta keratinocita, što dovodi do smanjenja interfolikularnih epidermalnih stanica (IFE), matičnih stanica melanocita (McSC) i matičnih stanica folikula dlake (HFSC). One se zbog toga slabije prihvaćaju za bazalnu membranu, a keratinociti se slabije obnavljaju što rezultira stanjenom epidermom. Nedostatak COL17A1 također može oslabiti spoj između epidermisa i dermisa, što rezultira krhkom kožom, stvaranjem mjehura, odgođenim zacjeljivanjem rana, finim borama i opuštenom kožom (Quan, 2023).

2.3.2 Utjecaj starenja na dermis

Uslijed starenja, u dermisu dolazi do promjena u strukturi izvanstaničnog matriksa, odnosno razgradnje kolagena djelovanjem metaloproteaza matriksa (MMP, engl. *matrix metalloproteinases*), smanjene proizvodnje kolagena zbog slabljenja TGF- β signalizacije te povećane prisutnosti proupalnih citokina i razvoja upalnog mikrokruženja.

Transformirajući faktor rasta β citokin (TGF- β , engl. *transforming growth factor β*) je primarni regulator kolagena i elastina. Kod starenja, dolazi do smanjene ekspresije TGF- β receptora tipa II (T β RII) u dermalnim fibroblastima te inhibicije proizvodnje kolagena. Također, smanjenja

signalizacija TGF- β dovodi do povećane ekspresije MMP-a koje razgrađuju komponente ECM-a. Zbog manjeg broja proteina u ECM-a smanjuje se elastičnost i strukturni integritet kože.

Važnu ulogu u procesu starenja kože ima i protein CCN1 koji regulira staničnu adheziju i migraciju, diferencijaciju, proizvodnju upalnih medijatora, sintezu proteina ECM i angiogenezu. Kod povišene razine CCN1 dolazi do sinteze citokina, kemokina, faktora rasta i proteaza. Osim toga visoke razine CCN1 inhibiraju TGF- β signalizaciju, a putem aktivatorskog proteina 1 (AP-1) povećavaju ekspresiju višestrukih transkripcijskih faktora, što dovodi do oštećenja dermisa. AP-1 uzrokuje stvaranje citokina koji potiču razvitak upale, a sve ovo dovodi do oštećenja dermisa i upale koje ubrzava starenja (Quan, 2023).

2.3.3 Autofagija

Za zdravlje i funkciju kože ključna je autofagija, proces kojim se recikliraju oštećeni lipidi, organeli i proteini pomoću lizosoma. Kako starimo, proces autofagije je sve manje aktivan i homeostaza kože je narušena što se očituje promjenama u funkcioniranju matičnih stanica kože, melanocita, Merkelovih stanica te sekretornih stanica žlijezda znojnice. Nakupljanje staničnog otpada u stanicama, poput krivo strukturiranih proteina i oštećenih mitohondrija, uzrokuje oksidativni stres i upalu. Bore i opuštena koža također su posljedica smanjene aktivnosti autofagije jer dolazi do nakupljanja oštećenih kolagenih vlakana i elastina. U fibroblastima autofagija uklanja lipofuscin, nakupinu pogrešno strukturiranih i modificiranih proteina i lipida koje uzrokuju nepravilnu pigmentaciju stare kože. Zbog svega navedenog, autofagija je predmet od interesa kod razvoja novih metoda protiv starenja kože. Poznato je da su regulatori koji kontroliraju početak i napredovanje autofagije u stanicama kože rapamicin (mTOR), AMP-aktivirana protein kinaza (AMPK) i geni povezani s autofagijom (ATG) u sisavaca. Ovi regulatori su mete znanstvenicima u borbi protiv starenja (Quan i sur., 2023).

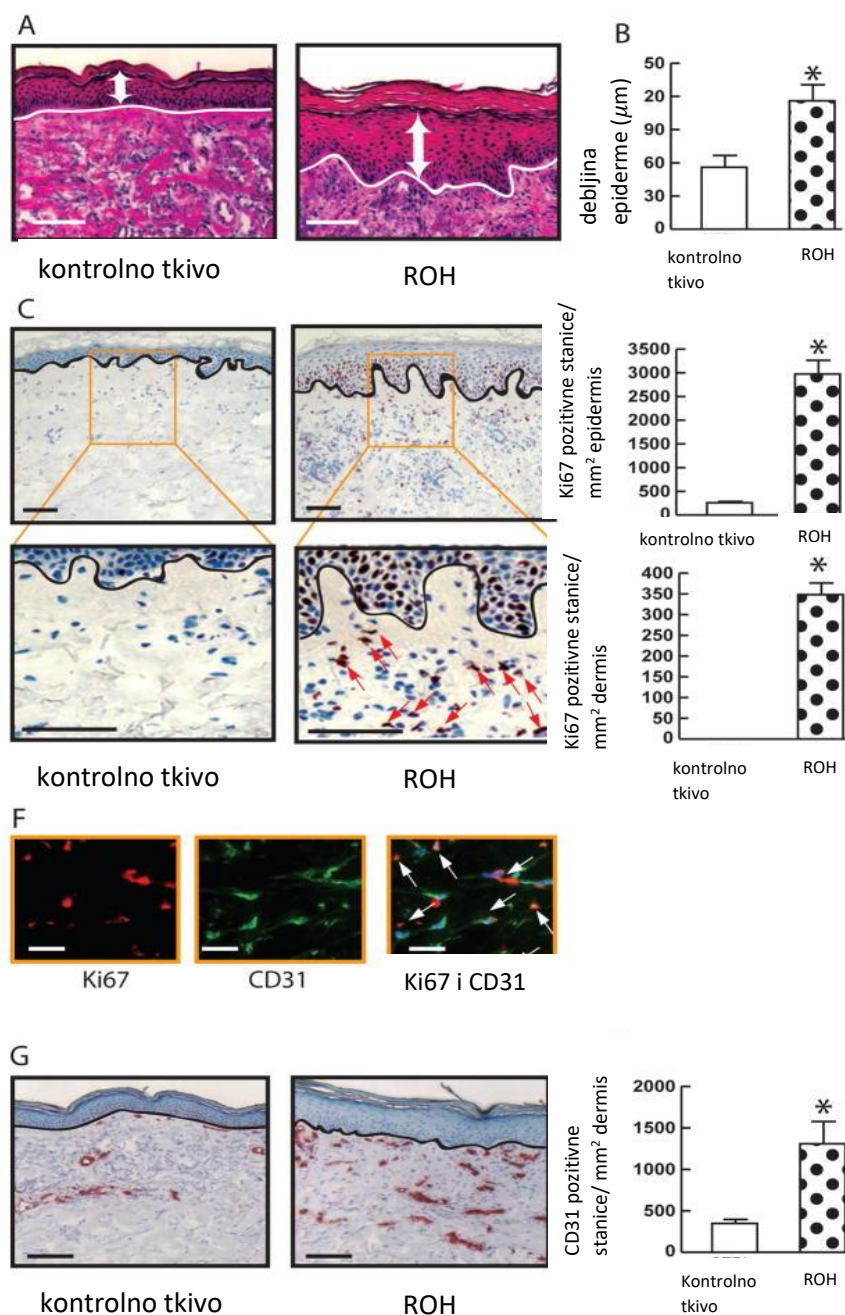
2.4 SVOJSTVA RETINOLA PROTIV STARENJA

Retinol (ROH), derivat vitamina A pokazao se učinkovitim u borbi protiv finih bora i sitnih nepravilnosti na koži. Smatra se da djeluje na receptore retinoične kiseline (RAR) i retinoidne X receptore (RXR), koji reguliraju transkripciju gena i diferencijaciju stanica. Topikalno primijenjen ROH prvo prolazi kroz *stratum corneum*, keratizirani sloj koji služi kao zaštitna barijera. Zbog svoje lipofilne prirode, ROH može proći kroz lipidnu barijeru i doći do

epidermisa. Tu se pretvara u retinaldehid, a zatim u aktivni oblik, retinoičnu kiselinu. ROH može prodrijeti i dublje do dermisa.

2.4.1 Utjecaj retinola na debljinu epiderme, keratinocite, dermalne stromalne stanice i broj krvnih žila

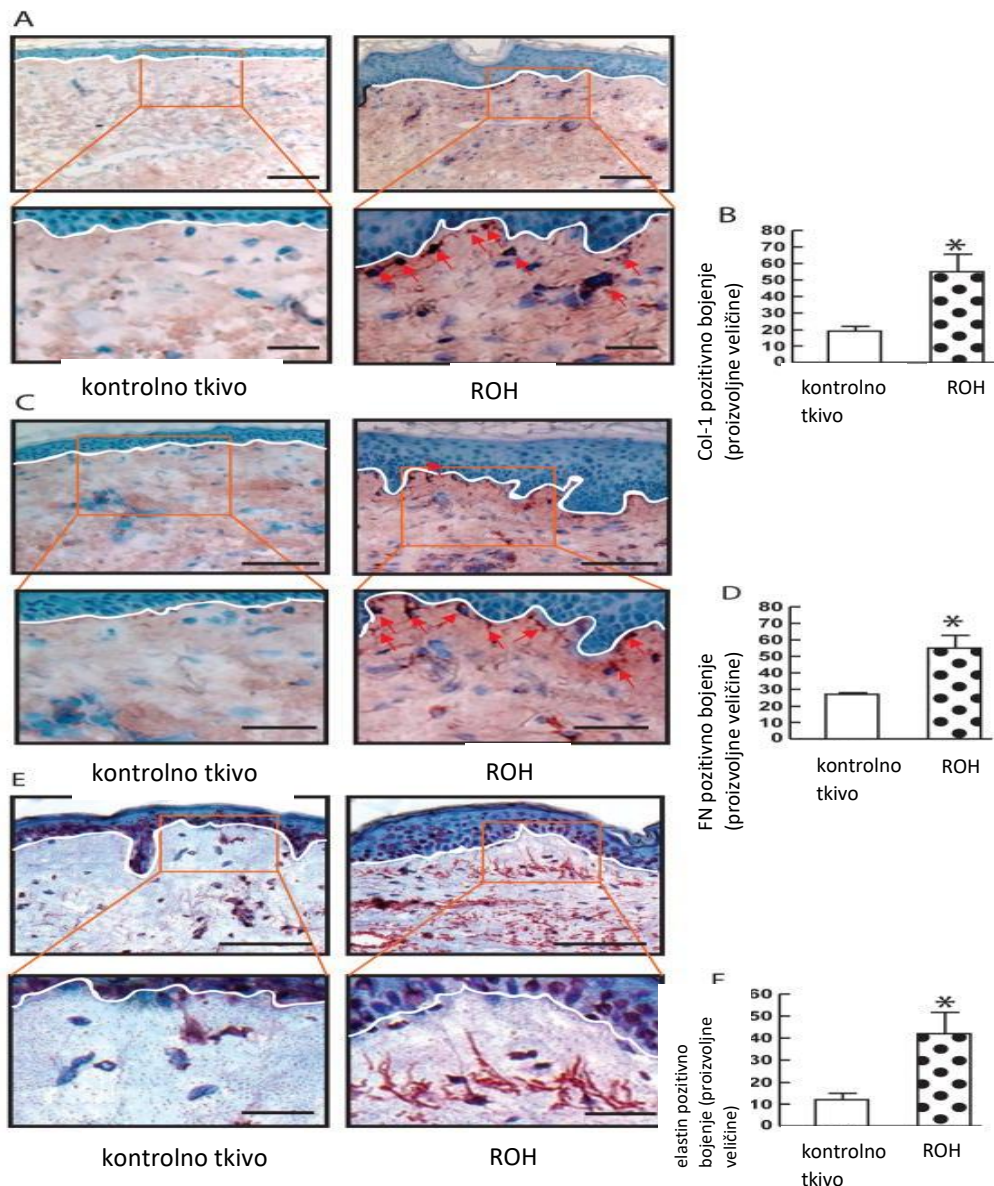
U studiji koju su proveli Shao i sur. (2016) nakon tretmana ROH, uočena su znatna poboljšanja u epidermisu i dermisu. Debljina epiderme povećana je 2,1 put, proliferacija keratinocita povećana je 12 puta kao i proliferacija dermalnih stromalnih stanica. Da bi se koža brže opskrbila hranjivim tvarima i obnovila oštećenja bitna je dobra prokrvljenost, a kvantitativne analize su otkrile da je tretman uzrokovao povećanje broja krvnih žila 3,8 puta.



Slika 6. Utjecaj topikalno primijenjenog ROH na debljinu epiderme, krvne žile, epidermalne keratinocite i dermalne endotelne stanice u ostarjeloj ljudskoj koži in vivo. (A) Histološki prikaz debljine epiderme nakon tretmana ROH-om. (B) Grafički prikaz epidermalne debljine. (C) Histološki prikaz povećanja epidermalnih keratinocita i dermalnih stromalnih stanica. (D i E). Grafički prikaz povećanja dermalnih stromalnih stanica i epidermalnih keratinocita. (F) Dvostruko imunofluorescentno bojenje s Ki67 i CD31, prikaz povećanja dermalnih stromalnih stanica. (G) Histološki prikaz povećanja broja krvnih žila. (H) Grafički prikaz povećanja broja krvnih žila (Slika preuzeta i prilagođena iz Shao Y., He T., Fisher G.J., Voorhees J.J. i Quan T. (2016). Molecular basis of retinol anti-ageing properties in naturally aged human skin in vivo, *International Journal of Cosmetic Science*, 39(1), 56–65)

2.4.2 Utjecaj retinola na dermalne proteine ekstracelularnog matriksa

Imunohistokemijskim metodama praćena je ekspresija glavnih dermalnih proteina ECM. Elastin, protein odgovoran za čvrstoću i elastičnost kože, povećao se 4 puta, a fibronektin, integrirajući protein koji sadrži vezna mjesta za kolagen, 2,2 puta. Topikalna primjena ROH-a je utjecala i na povećanje sadržaja kolagena tipa 1, glavnog strukturnog proteina u koži, 3 puta (Shao i sur., 2016) (Slika 7.).



Slika 7. Poboljšanje mikrookruženja ekstracelularnog matriksa nakon tretmana ROH-om. (A) Histološki prikaz povećanja kolagena tipa 1. (B) Grafički prikaz povećanja kolagena tipa 1. (C) Histološki prikaz povećanja fibronektina. (D) Grafički prikaz povećanja fibronektina. (E) Histološki prikaz povećanja tropoelastina. (F) Grafički prikaz povećanja elastina (Slika preuzeta i prilagođena iz Shao Y., He T., Fisher G.J., Voorhees J.J. i Quan T. (2016). Molecular basis of retinol anti-ageing properties in naturally aged human skin in vivo, *International Journal of Cosmetic Science*, 39(1), 56–65)

2.4.3 Utjecaj retinola na keratinocite, dermalne fibroblaste, organizaciju kolagenskih vlakana i glatkoću dermisa

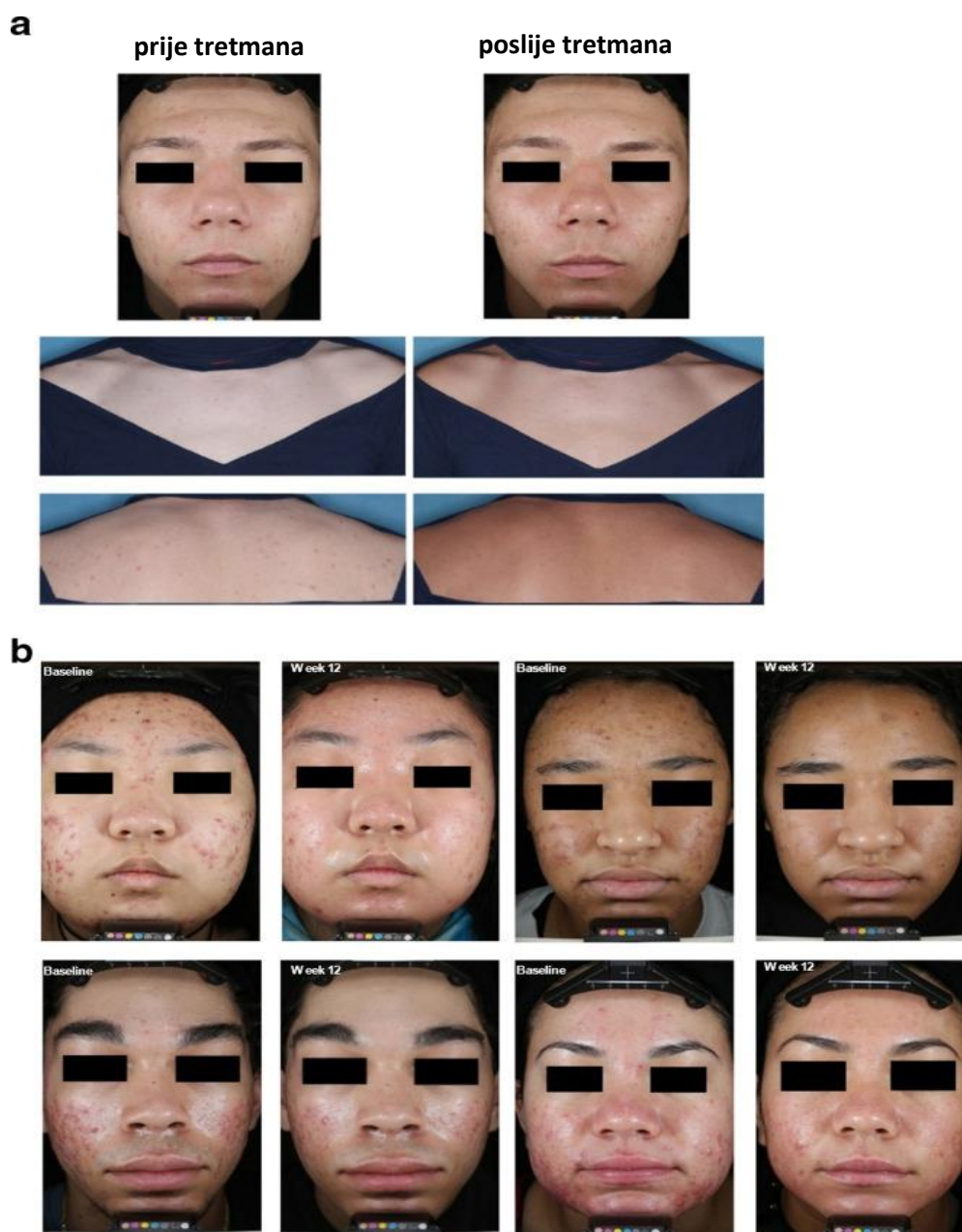
ROH je na proliferaciju keratinocita utjecao tako što je potaknuo povećanje proteina c-Jun. C-Jun zajedno s c-Fos čini kompleks AP-1, transkripcijski faktor koji regulira ekspresiju gena kao odgovor na različite podražaje uključujući citokine, faktore rasta, stres te bakterijske i virusne infekcije. Ovaj kompleks je ključan za razne stanične procese poput proliferacije, diferencijacije i apoptoze (Shao i sur., 2016).

ROH aktivira dermalne fibroblaste, a dokumentirano je da aktivirani dermalni fibroblasti povećavaju proizvodnju ECM-a aktivacijom signalizacije putem TGF- β . Praćen je utjecaj na komponente puta: TGF- β receptore, ligande, i Smad proteine. Ustanovljeno je da ROH povećava ekspresiju TGF- β 1, smanjuje ekspresiju Smad7, inhibitora TGF- β 1 signalnog puta.

Ostarijelu kožu karakteriziraju neorganizirana i fragmentirana kolagenska vlakna. Nakon tretmana uočeni su visoko organizirani, gusti snopovi kolagenih vlakana, karakteristične trakaste strukture. Također smanjena je hrapavost i povećana glatkoća dermisa.

2.5 TOPIKALNA PRIMJENA TRIFAROTENA I NJEGOV UTJECAJ NA AKNE

Akne su složena bolest s višestrukim uzročnicima, a najistaknutiji su: abnormalna folikularna keratinizacija, povećana proizvodnja sebuma, kolonizacija bakterijom *Cutibacterium acnes* i poremećaj imunološkog sustava. Trifaroten, retinoid četvrte generacije, pokazao se dobrim u liječenju akni. Trifaroten cilja RAR- γ receptore zbog čega je učinkovit čak i u niskim koncentracijama. Djeluje na keratinocite tako što potiče diferencijaciju i smanjuje proliferaciju, te time sprečava hiperkeratinizaciju. Johnson i sur. (2022) provodili su kliničko ispitivanje učinka trifarotena kod akni na licu i na trupu. Poboljšanja su se vidjela već nakon prvog tjedna kada su se pojavile i prve nuspojave. Nuspojave su bile blage te kratkoročne. Najčešće su to bile opekline od sunca, iritacija ili svrbež na mjestu primjene. Podnošljivost je bila bolja na trupu nego na licu. Monoterapija trifarotenom bila je dobra terapija za liječenje blažih oblika akni, a za teže oblike Del Rosso i sur. (2022) proučavali su kombinaciju kreme s trifarotenom i oralnog doksiciklina od 120 mg (Slika 8.) (Tan i sur., 2023).



Slika 8. Acne vulgaris. Fotografije pacijenata: (A) monoterapija trifarotenom (Johnson i sur.) i (B) trifaroten plus doksiciklin kod teških akni (Del Rosso i sur.) (Slika preuzeta i prilagođena iz Tan, J., Chavda, R., Baldwin, H., & Dreno, B. (2023). Management of acne vulgaris with trifarotene, *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 27(4), 368–374)

2.6 ORALNI IZOTRETIONIN

Izotretinoin (13-cis-retinoična kiselina) je lijek odobren od Europske agencije za lijekove (EMA), poznat pod nazivom Roaccutane, koji se koristi se za liječenje težih oblika akni uz dodatan oprez zbog niza nuspojava. Neke od njih su osip koji se može razviti u mjehuriće, ljuštenje kože, ekcemi, modrice, može povisiti razine jetrenih enzima ili masnoće u krvi, povećati osjetljivost kože na sunce te imati i niz drugih neželjenih učinaka. No zbog brojnih pozitivnih učinaka liječnici se sve češće oslanjaju na ovaj lijek. Osim što smanjuje veličinu žlijezda lojnica i izlučivanje sebuma, izotretinoin također smanjuje keratinizaciju te modificiranjem mikrokruženja, brojnost bakterija *Cutibacterium acnes*. Izotretinoin je koristan i zbog svojih protuupalnih i imunomodulirajućih svojstva. Naime, on smanjuje ekspresiju TLR-2 (engl. *toll-like receptor 2*) u monocitima (kod ljudi s aknama monociti pokazuju veću ekspresiju TLR-2), minimizira upalni citokinski odgovor te pokazuje antineoplastična svojstva. Izotretinoin se pokazao učinkovitim za liječenje rosaceae, bolesti prepoznatljive po trajnom crvenilu, papulama, pustulama i eritemu. Do poboljšanja dolazi zbog djelovanja izotretinoina na smanjeno izlučivanje sebuma, proliferaciju sebocita i smanjenje upalnih procesa, ali i zbog smanjenja zastupljenosti bakterije *Demodex folliculorum* povezane s rosaceom. Bolesti poput psorijaze, seboreičnog dermatitisa, karcinoma kože i kožnog eritematoznog lupusa samo su neke kod kojih je ovaj lijek također pokazao pozitivan ishod. Obzirom da su neka od ovih stanja u porastu, izotretinoin daje nadu za olakšavanje života s njima (Paichitrojžana i sur., 2023).

2.7 RETINOIDI I NJIHOVA VAŽNOST U UROĐENOM IMUNITETU KOŽE

Kada mikrobi dođu u dodir s kožom susreću se sa keratinocitima koji prepoznaju patogene te aktiviraju imunološki odgovor i otpuštaju proupalne citokine. Poznata je važnost retinoida kod keratinizacije, jer višak ili manjak retinoida dovodi do abnormalne keratinizacije. Druga vrsta stanica važnih kod imunološkog odgovora su dendritične stanice koje pripadaju antigenprezentirajućim stanicama (APC). Langerhansove stanice (LC) su vrsta dendritičkih stanica koja prve dolaze u kontakt s mikrobnim antigenima, a retinoidi dokazano igraju važnu ulogu u njihovom sazrijevanju. Mastociti su još jedna vrsta stanica regulirana retinoidima važna u imunološkom odgovoru na mikrobe. S obzirom da imaju IgE receptor visokog afiniteta (FcεRI)

i receptore TLR (1-4, 6, 7 i 9), u dodiru s mikrobima izlučuju proupalne citokine. U studiji na miševima je uočeno da njihova koža otpušta protein nalik na ljudski rezistin α (RELM α , engl. *resistin-like molecule α*) i rezistin, a bitni su zbog svoje antimikrobne aktivnosti. Miševi tretirani izotretinoinom, imali su povećanu ekspresiju RELM α i povećanu otpornost na infekcije kože, što još jednom upućuje na važnost vitamina A i njegovih derivata kod imuniteta kože (Roche i sur., 2021).

2.8 RJEŠAVANJE UPALNIH DERMATOLOŠKIH STANJA CILJANJEM RECEPTORA SLIČNIH TOLLU (TLR)

U stanicama urođene imunosti kao što su antigen-prezentirajuće stanice (APC), epitelne i endotelne stanice, nalaze se glikoproteini, receptori slični Tollu (TLR, engl *Toll-like receptor*), zaslužni za aktivaciju protuupalnog imunološkog odgovora.

Do njegove aktivacije dolazi nakon prepoznavanja patogena ili oštećenih stanica. Receptori TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 i TLR11 se ekspimiraju na plazma membrani i prepoznaju lipide mikrobne membrane, lipoproteine i proteine. Receptori TLR3, TLR7, TLR8 i TLR9 se ekspimiraju na unutarstaničnim vezikulama i prepoznaju mikrobne nukleinske kiseline.

TLR2 je pod utjecajem retinoične kiseline kao i TLR3, a razlika je u tome što je ligand TLR3 dvolančana RNA (dsRNA), dok su ligandi TLR3 di- i tri-acilirani lipoproteini. Putevi povezani s TLR2 ključni su za pokretanje antimikrobne aktivnosti keratinocita protiv stafilokokne infekcije (Roche i Harris-Tryon. 2021). Uočeno je da nakon primjene ATRA dolazi do smanjene sinteze mRNA TLR2 i CD14 (TLR2 ko-receptora) za 34 odnosno 65 posto, zajedno sa sintezom mRNA TLR1 (koja zajedno s TLR2 prepoznaje ligand). Smanjena je i ekspresija proteina TLR-2 i CD14 za 41 odnosno 42 posto te određenih citokina. Ovo upućuje da ATRA kroz određene puteve utječe na smanjenje upale posredovane TLR-om (Valins i sur., 2010).

2.9 NUSPOJAVE RETINOIDA

Uobičajene nuspojave retinoida su svrbež, peckanje, eritem, suhoća i ljuškanje. Češće su kod tretinoina i tazarotena nego izotretinoina, adapalena, retinola i retinaldehida. Utvrđeno je da do nuspojava dolazi zbog slobodne karboksilne kiseline na polarnom kraju, što je vidljivo iz eksperimenata aktivnosti i toksičnosti izvedenih na stanicama jajnika kineskog hrčka (CHO, engl. *Chinese hamster ovary cells*).

Kim i sur. (2003) su dokazali promijene u ekspresiji mRNA citokina povezanih s upalom nakon primjene retinoične kiseline i retinola. Citokini povezani s upalom su MCP-1 (engl. *monocyte chemoattractant protein-1*), interleukin-8 (IL-8), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), TNF- α (engl. *tumor necrosis factor α*) i interferon- γ (IFN- γ). Dokazali su i da istodobna primjena retinoida i prirodnih sredstava ili ekstrakata kao što su β -sitosterol, β -gliciretinska kiselina, ginkgo ekstrakt, ekstrakt maline, ekstrakt kola-oraha ili Enna-kompleks, također može biti korisna u suzbijanju nadražujućih učinaka koje proizvode lokalni retinoidi. Prirodna sredstva i ekstrakti smanjili su sekreciju MCP-1 i IL-8 iz ljudskih fibroblasta te tako smanjili nuspojave (Mukherjee i sur., 2006).

Primjena retinoida tijekom trudnoće ili kod žena koje planiraju trudnoću, nije preporučena. To je zato što organi u razvoju ovise o koncentraciji nakupljene retinoične kiseline u vremenu, tijekom određenih faza razvoja organa. Iako su promjene na koži česte kod trudnica, najčešći pristup u liječenju akni u trudnoći je korištenje lokalne terapije, jer se minimalno ona apsorbira te stoga ima najmanju mogućnost utjecaja na fetus. Topikalni tretinoin i adapalen se minimalno apsorbiraju, ali neke studije upućuju na teratogenost kada se ova sredstva koriste u prvom tromjesečju. Takav rizik nije uočen u studijama koje su pratile korištenje oko drugog i trećeg tromjesečja, ali postoji zabrinutost da bi se mogle pojaviti kod liječenja većih površina kože. Vitamin A je normalna komponenta majčinog mlijeka i može se pretpostaviti da će se tretinoin ili adapalen također otpustiti u mlijeko. Međutim, podataka o primjeni topikalnih retinoida i njihovom izlučivanju u majčino mlijeko nema. Iako postoje dokazi da je rizik minimalan, on nadmašuje koristi od terapije retinoidima (Motamedi i sur., 2022).

Retinol je za razliku od retinoične kiseline blaži oblik retinoida jer mora proći pretvorbu u retinal, a zatim u retinoičnu kiselinu. Zbog toga pokazuje manje iritacija u vidu svrbeža, eritema, suhoće i ljuškanja. Za postizanje jednakih rezultata kao retinoična kiselina, retinol se mora primijeniti u većoj koncentraciji. Uzimanje oralnog ROH-a može uzrokovati mučninu,

povraćanje i vrtoglavicu. Za veću učinkovitost, naročito kod dubokih bora, hiperpigmentacije i težih oblika akni poseže se za retinaldehidom, adapalenom, tretinoinom i tazarotonom koji su jačeg djelovanja od retinil-palmitata i retinola koji se smatraju blažim oblicima retinoida. Tretinoin je vjerojatno najsnažniji i najistraživaniji retinoid za terapiju fotostarenja, ali zbog iritacija slabo je prihvaćen od strane pacijenata.

Kako bi se nuspojave svele na najmanju moguću mjeru razvijaju se formulacije retinoida kojima bi se poboljšala njihova stabilnost, podnošljivost i učinkovitost. Prvi način je upotreba prirodnih spojeva poput polifenola, flavonoida i karotenoida u prevenciji znakova starenja. Kako bi se poboljšali njihovi učinci predloženo je i kombinirati ih s retinoidima i kremama za sunčanje. Još jedan način koji je i dalje u fazi istraživanja je korištenje nanočestica. Nanočestice su se pokazale kao dobar način dostave topikalnih retinoida, poboljšale su stabilnosti, podnošljivosti i učinkovitosti retinoida.

2.10 NOVI SUSTAVI DOSTAVE RETINOIDA

Kako bi se osigurala veća učinkovitost, terapijska koncentracija lijeka na ciljnom mjestu, smanjila toksičnost ili ciljalo specifično mjesto djelovanja, razvijaju se novi sustavi dostave lijekova. Nanočestice, liposomi, mikrospužve, mikroemulzije te inkluzijski kompleksi s dekstrinom se sve više koriste u dostavi topikalno primijenjenih lijekova. Date i sur. (2006), dokazali su njihov učinak na povećanje podnošljivosti i efikasnosti pri liječenju akni.

2.10.1 Nanočestice

Nanočestice su novi terapijski sustav s veličinom čestica 1-100 nm. Omogućavaju solubilizaciju hidrofobnih aktivnih tvari, poboljšanu bioraspoloživost, poboljšanu farmakokinetiku aktivnih farmaceutskih sastojaka (API, engl. *active pharmaceutical ingredient*), zaštitu API-ja od razgradnje, poboljšanu staničnu apsorpciju, ciljanje tkiva i kontrolirano oslobađanje API-ja. S obzirom na matriks nanočestica dijele se na: polimerne nanočestice, čvrste lipidne nanočestice i anorganske nanočestice. Dugi niz godina, istraživanja nanočestica su bila okrenuta dostavi API-ja parenteralnom ili oralnom primjenom, a tek zadnje desetljeće posvećeno je topikalnoj primjeni lijeka. Jennings i sur. (2000) uočili su potencijal čvrstih lipidnih nanočestica (SLN) u dostavi retinola. U usporedbi s emulzijom, retinol pakiran u nanočestice se pokazao stabilnijim. Ovim načinom osiguralo se lokalizirano i kontrolirano

otpuštanje retinola na ciljno mjesto. Patravale i sur. (2005) su zaključili da tretinoin na bazi SLN-a pokazuje značajno bolju podnošljivost u usporedbi s drugim proizvodima dostupnim na tržištu. Osim smanjenja iritacija, takav tretinoin imao je veći utjecaj na debljinu epiderme, što upućuje na poboljšanu apsorpciju i kontrolirano otpuštanje tvari na ciljno mjesto. To je potvrdila i studija na miševima. Nakon četverodnevne primjene kreme s nanočesticama tretinoina, debljina epiderme povećala se dvostruko u usporedbi s uobičajenim formulacijama. Također je uočen porast epidermalnog heparin-vezujućeg faktora rasta, koji igra ključnu ulogu u regeneraciji tkiva (Mukherjee i sur., 2006).

2.10.2 Mikroemulzije

Date i Patravale (2003) pokazali su da se mikroemulzije mogu koristiti za smanjenje iritacije uzrokovane tretinoinom. Dizajnirali su O/W (uljni sustav disperziran u vodenom sustavu) mikroemulzije i gelove na bazi mikroemulzije za poboljšanu dostavu tretinoina. Kada su mikroemulzije tretinoina, gelove na bazi mikroemulzije i tržišne gelove tretinoina (0,05%) usporedili s obzirom na njihov potencijal iritacije na kunićima, mikroemulzije i gelovi na bazi mikroemulzije pokazali su trostruko smanjenje eritema u usporedbi s tržišnom formulacijom tretinoina. Smatra se da masna jezgra, prisutna oko tretinoina u mikroemulziji, doprinosi smanjenoj iritaciji (Date i sur., 2006).

2.10.3 Liposomi

Liposomi su male sferične vezikule, s najmanje jednim lipidnim dvoslojem, promjera 100 µm do 80 nm. Zbog visoke biokompatibilnosti dobar su način dostave lijekova. U početku su znanstvenici bili usredotočeni na primjenu liposoma u parenteralnoj dostavi, a kasnije su shvatili potencijal u topikalnoj primjeni. Foong i sur. (1990) u istraživanju provedenom na zamorcima, usporedili su bioraspoloživost tretinoina u liposomskoj formulaciji, kremi i gelu. Liposomske formulacije imale su veću bioraspoloživost, i dovele do najviše koncentracije tretinoina u epidermisu i gornjem dermisu. Montenegro i sur. (1996) su istražili utjecaj naboja i sastava liposoma na apsorpciju tretinoina u *stratum corneum* i epidermis. Primijetili su da pozitivno nabijeni liposomi rezultiraju većom apsorpcijom tretinoina, u usporedbi s negativno nabijenim i neutralnim liposomima. Liposomalna enkapsulacija tretinoina je također poboljšala njegovu fotostabilnost i rezultirala značajno većom rezidualnom koncentracijom u odnosu na druge formulacije. Smanjen eritem, svrbež, peckanje i iritacija kože, još su neke od pozitivnih strana liposomskog tretinoinskog gela (Date i sur., 2006).

2.10.4 Mikro-spužve

Konvencionalni dermatološki proizvodi obično pružaju aktivne sastojke u relativno visokim koncentracijama, ali s kratkotrajnim djelovanjem. Posljedica toga je ciklus koji započinje kratkoročnim prekomjernim liječenjem, praćenim dugotrajnim nedovoljnim liječenjem. Mikro-spužve pokazuju potencijal u dostavi lijekova zbog svoje biološke inertnosti, nenadražujuće, nemutagene, nealergijske i netoksične prirode te biorazgradivog polimernog sustava. Mikro-spužve imaju kapacitet skladištenja aktivne tvari u količini jednakoj njihovoj težini. U tim sustavima, na otpuštanje aktivne tvari utječe unutarnja površina, promjer pora, stupanj skladištenja aktivne tvari, topljivosti aktivne tvari u okolnom mediju i koeficijent raspodjele aktivne tvari između polimernih sfera i rožnatog sloja kože. Nadalje, oslobađanje aktivne tvari iz mikro-spužve može se modulirati korištenjem tlaka, promjenom temperature, promjenom pH, promjenom polarnosti i promjenom topljivosti. Mikro-spužve s tretinoinom su komercijalizirane pod nazivom Retin-A Micro. Usporedbom nadražujuće prirode gelova koji sadržavaju slobodni tretinoin i tretinoinskih mikro-spužvi, tretinoinne mikro-spužve pokazale su mnogo bolju podnošljivost (Date i sur., 2006).

Zbog restriktivnih regulacija u nekim državama, poput zabrane testiranja kozmetičkih proizvoda na životinjama, koja je stupila na snagu u Europi u ožujku 2013., nedostaju in vivo te kliničke studije koje proučavaju efikasnost i sigurnost novih formulacija (Milosheška i Roškar, 2022). Među svim navedenim strategijama, samo su mikro-spužve dostupne na tržištu, dok mikroemulzije, čvrste lipidne nanočestice i hidrogelovi pokazuju ogroman potencijal za komercijalizaciju (Date i sur., 2006).

3. ZAKLJUČAK

Ljudska koža, najveći organ tijela, izložena je vanjskim utjecajima i kemijskim tvarima te ima važnu ulogu u zaštiti organizma. Zbog svoje funkcionalne složenosti često pokazuje promjene u strukturi i izgledu. Retinoidi su pokazali pozitivne rezultate u istraživanjima provedenim na ostarjeloj ljudskoj koži, koži s aknama, dermatitisom, psorijazom i drugim bolestima. Osim koristi, retinoidi pokazuju i nuspojave. Razumijevanje molekularnih mehanizama retinoida važno je za razvitak novih formulacija i strategija dostave retinoida kako bi se smanjile negativne strane korištenja retinoida. SLN, hidrogelovi i mikro-spužve pokazale su najveći potencijal u dostavi retinoida, ali nedostatak in vivo studija, koje bi istražile sigurnost i

efikasnost novih formulacija, ograničava njihovu upotrebu u komercijalnim proizvodima. Bez in vivo studija teško je zaključiti kako se nove formulacije ponašaju unutar organizma, kako se raspoređuju u tkivima te koliko specifično ciljaju stanice. Stoga je potrebno pribaviti toksikološke podatke iz znanstveno potvrđenih alternativa kao što su in vitro, ex vivo studije i in silico modeli.

4. LITERATURA

Boskabadi M., Saeedi M., Akbari J., Morteza-Semnani K., Hashemi S.M.H., Babaei A. (2021). Topical gel of vitamin a solid lipid nanoparticles: a hopeful promise as a dermal delivery system. *Advanced Pharmateutical Bulletin*, 11(4), 663–74

Carazo A., Macáková K., Matoušová K., Krčmová L. K., Protti M. & Mladěnka P. (2021). Vitamin A Update: Forms, sources, kinetics, detection, function, deficiency, therapeutic use and toxicity. *Nutrients*, 13(5), 1703

Date A. A., Naik B. & Nagarsenker M. S. (2006). Novel drug delivery systems: Potential in improving topical delivery of antiacne agents. *Skin Pharmacology and Physiology*, 19(1), 2–16

Date A.A., Patravale V.B., (2003). Design of microemulsion based tretinoin gel (abstract A-176). *Proceedings of the National Conference on Surfactants and Biocolloids*, 11, 156–157

Del Rosso J.Q., Johnson S.M., Schlesinger T. (2022). A randomized, controlled trial of trifarotene plus doxycycline for severe acne vulgaris. *The Journal of Clinical and Aesthetic dermatology*, 15(7), 53-59

Foong W.C., Harsany B.B., Mezei M., (1990). Biodisposition and histological evaluation of topically applied retinoic acid in liposomal, cream and gel dosage forms. U: I. Hanin & Pepeu G., (ur.). *Phospholipids* (str. 279-282) Boston, MA: Springer

Kim B.H., Lee Y.S., Kang K.S. (2003). The mechanism of retinol-induced irritation and its application to anti-irritant development. *Toxicology Letters*, 146, 65–73

Milosheska D. & Roškar R. (2022). Use of retinoids in topical antiaging treatments: A focused review of clinical evidence for conventional and nanoformulations. *Advances in Therapy*, 39(12), 5351–5375

Montenegro L., Panico A.M, Ventimiglia A., Bonina F.P., (1996). In vitro retinoic acid release and skin permeation from different liposome formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 133, 89–96

- Motamedi M., Chehade A., Sanghera R. & Grewal P. (2021). A clinician's guide to topical retinoids. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 26(1), 71–78
- Mukherjee S., Date A., Patravale V., Korting H. C., Roeder A. & Weindl G. (2006). Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clinical Interventions in Aging*, 1(4), 327–348
- Nilsson C., (2020). Retinoids in mammalian reproduction, with an initial scoping effort to identify regulatory methods, Nordic Council of Ministers, DOI: [10.6027/temanord2020-507](https://doi.org/10.6027/temanord2020-507)
- Olivares A.M., Moreno-Ramos O.A., Haider N.B. (2016). Role of nuclear receptors in central nervous system development and associated diseases. *Journal of Experimental Neuroscience*, 9, 93-121
- Paichitrojjana A. & Paichitrojjana A. (2023). Oral isotretinoin and its uses in dermatology: a review. *Drug Design Development and Therapy*, 17, 2573–2591
- Patravale V.B., Shah K. (2005). Solid lipid nanoparticles based tretinoin gels using novel solvent emulsification approach. *Proceedings of the International Symposium on Advances in Technology and Business Potential of Novel Drug Delivery Systems*, 6, 55
- Ray S., Das B. & Dasgupta S. (2019). Potential therapeutic roles of retinoids for prevention of neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 14(11), 1880
- Roche F. C. & Harris-Tryon T. A. (2021). Illuminating the role of Vitamin A in skin innate immunity and the skin microbiome: a narrative review. *Nutrients*, 13(2), 302
- Rodahl K. & Moore T. (1943). The vitamin A content and toxicity of bear and seal liver. *The Biochemical journal*, 37(2), 166–168
- Shao Y., He T., Fisher G. J., Voorhees J. J. & Quan, T. (2016). Molecular basis of retinol anti-ageing properties in naturally aged human skin in vivo. *International Journal of Cosmetic Science*, 39(1), 56–65
- Szymański Ł., Skopek R., Palusińska M., Schenk T., Stengel S., Lewicki S., Kraj L., Kamiński P. & Zelent A. (2020). Retinoic acid and its derivatives in skin. *Cells*, 9(12), 2660

- Tavakoli S. & Klar A. S. (2020). Advanced hydrogels as wound dressings. *Biomolecules*, 10(8), 1169
- Valins W., Amini S., Berman B. (2010). The expression of toll-like receptors in dermatological diseases and the therapeutic effect of current and newer topical toll-like receptor modulators. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 3(9), 20–29
- VanBuren C. A. & Everts H. B. (2022). Vitamin A in skin and hair: An update. *Nutrients*, 14(14), 2952
- Tan J., Chavda R., Baldwin H., Dreno B. (2023). Management of acne vulgaris with Trifarotene. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 27(4), 368–374
- Zasada M. & Budzisz E. (2019). Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. *Advances in Dermatology and Allergology*, 36(4), 392–397
- Quan T., Qin Z., Shao Y., Xu Y., Voorhees J. J. & Fisher G. J. (2011). Retinoids suppress cysteine-rich protein 61 (CCN1), a negative regulator of collagen homeostasis, in skin equivalent cultures and aged human skin in vivo. *Experimental Dermatology*, 20(7), 572–576
- Quan T. (2023). Human skin aging and the anti-aging properties of retinol. *Biomolecules*, 13(11), 1614
- Wolf G. (1996). A history of vitamin A and retinoids. *The FASEB Journal*, 10(9), 1102–1107