

Načela razvoja kozmetičkog proizvoda protiv starenja kože

Lokas Kapetanović, Ksenija

Professional thesis / Završni specijalistički

2020

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:163:126790>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-26**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO – BIOKEMIJSKI FAKULTET

Ksenija Lokas Kapetanović

NAČELA RAZVOJA KOZMETIČKOG PROIZVODA PROTIV STARENJA KOŽE
Specijalistički rad

Zagreb, 2020. god.

Poslijediplomski specijalistički studij Dermatofarmacija i kozmetologija

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Jasmina Lovrić

Specijalistički rad obranjen je dana 30.9.2020. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Sveučilišta u Zagrebu, u Velikoj predavaonici, A.Kovačića 1. , pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Ivan Pepić
Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
2. izv. prof. dr. sc. Jasmina Lovrić
Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
3. dr. sc. Marijana Erceg, znanstvena suradnica
PLIVA Hrvatska d.o.o.

Rad ima 120 listova.

PREDGOVOR

Specijalistički rad izrađen je u Zavodu za farmaceutsku tehnologiju Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Jasmine Lovrić.

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Jasmini Lovrić na strpljenju, uloženom trudu i potpori tijekom izrade specijalističkog rada.

Ujedno zahvaljujem voditeljici specijalističkog studija Dermatofarmacija i kozmetologija, prof. dr. sc. Jeleni Filipović-Grčić na velikom razumijevanju.

SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj predloženog specijalističkog rada je pregledno opisati i kritički raspraviti načela razvoja kozmetičkog proizvoda protiv starenja kože. Poseban naglasak bit će stavljen na specifičnosti aktivnih tvari koje se koriste u proizvodima protiv starenja, te specifičnostima regulatornih zahtjeva različitih regija/država. Sve navedeno je ključno pri razvoju kozmetičkih proizvoda namijenjenog globalnom tržištu.

MATERIJALI I METODE

Znanstvena i stručna literatura pretraživana je prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu, koristeći bazu podataka PubMed. Elektroničkim putem pretraživalo se od općih prema specijaliziranim člancima/poglavljima. Pretraživane su i mrežne stranice kozmetičkih kompanija/korporacija. Regulatorni zahtjevi za stavljanje u promet kozmetičkih proizvoda različitih regija/država analizirani su korištenjem raspoloživih baza nadležnih regulatornih tijela. Važeći pravni dokumenti (UREDBA (EZ) br. 1223/2009 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima, Uredbe o izmjenama UREDBA (EZ) br. 1223/2009) na području Europske unije preuzeti su s internetskih stranica Narodnih novina i zakonodavstva Europske komisije.

REZULTATI

Kompetitivnost kozmetičkih proizvoda protiv starenja kože najčešće je uvjetovana ulaganjem u znanstveno istraživački rad iz područja dermatologije, dermatofarmacije i kozmetologije. U okvirima svojih mogućnosti svaka kozmetička kuća ima ideju, ishodišnu točku, kao pokretač razvoja, te slične ključne korake u razvoju kozmetičkog proizvoda. Međutim, razlika u kvaliteti i cijeni kozmetičkog proizvoda značajno se razlikuje. Kozmetičke korporacije imaju razvijene odjele za obavljanje svih faza razvoja, proizvodnje i prodaje kozmetičkog proizvoda. Financijska sredstva koja ulažu u znanstveno-istraživački rad jednako su impresivna. Ishodišna točke u razvoju kozmetičkog proizvoda je uporaba novih aktivnih tvari, kojima se postiže osnova za stalni tržišni razvoj i konkurentnost, te definiranje ključnih koraka u razvoju proizvoda protiv starenja kože. Međutim, kako bi ostvarili zadani cilj i razvili konkurentne, inovativne kozmetičke pripreme, kozmetičke korporacije moraju stvoriti i dodatnu, emocionalnu vrijednost za potrošača, korisnika proizvoda.

ZAKLJUČAK

U proteklom desetljeću ostvaren je značajan napredak u razumijevanju staničnih i molekularnih mehanizama starenja, a time su otvorene mogućnosti za razvoj novih pripravaka i postupaka u prevenciji i/ili usporavanju degenerativnih promjena kože.

Tehnološki napredak i stalne inovacije postale su glavna obilježja moderne kozmetičke industrije, sve sa ciljem unapređenja kvalitete, učinkovitosti i sigurnosti proizvoda. Poseban naglasak, po pitanju uvođenja inovacija, stavlja se na proizvode namijenjene usporavanju i prevenciji starenja kože. U istraživanju i razvoju novih proizvoda protiv starenja kože sve se češće susrećemo s iznimno osjetljivim aktivnim tvarima, kao i nosačima aktivnih tvari, stoga formulacija kozmetičkog proizvoda i odabir odgovarajućeg tehnološkog postupka proizvodnje postaje jedan od ključnih čimbenika kvalitetnog proizvoda. Razvoj kozmetičkog proizvoda time postaje sve složeniji s jasno definiranim ciljanim procesima istraživanja i razvoja, uz korištenje inovativnih tehnologija i znanstvenih metoda. Proizvodi protiv starenja kože su jedan od najbrže rastućih segmenata tržišta proizvoda za njegu kože. Težnja ka strožoj i restriktivnijoj regulativi kozmetičkih proizvoda stavlja sve veći naglasak na odgovornost proizvođača, koji moraju zajamčiti sigurnost predviđene namjene i potkrijepiti tvrdnje, o njihovoj učinkovitosti, na odgovarajući način.

Međutim, regulativa proizvoda protiv starenja kože značajno se razlikuje na europskom, američkom, te ostalim tržištima. Kako bi se razvio proizvod za globalno tržište potreban je pažljiv odabir aktivnih tvari, te tehnološkog postupka proizvodnje koji je skladu sa regulatornim zahtjevima na globalnoj razini, a sve s ciljem globalne distribucije proizvoda i ostvarivanja maksimalnog profita. Kozmetičke kompanije koje imaju razvijene odjele istraživanja i razvoja , te globalnu prepoznatljivost, ostaju tržišni lideri 21.stoljeća.

SUMMARY

OBJECTIVES

The aim of proposed thesis is to clearly describe and critically discuss the principles of development antiaging cosmetic product. Emphasis will be placed on the specifics of regulatory requirements in different regions/countries, which is crucial in the development of cosmetic products intended for global market presents.

MATERIALS AND METHODS

Scientific and professional literature was searched by research topic, subject, authors and journal, using the PubMed database. It was searched electronically from general to specialized articles/chapters. The websites of cosmetic companies/corporations were also searched. Regulatory requirements for cosmetic products in different regions/countries have been analyzed using the available databases of the competent regulatory authorities. Valid legal documents (REGULATION (EC) No 1223/2009 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 30th November 2009 on cosmetic products, Regulation amending REGULATION (EC) No 1223/2009) in the European Union have been downloaded from the websites of the European Commission.

RESULTS

The competitiveness of anti-aging skin products is mostly determined by technological innovations and investments in scientific research in the field of dermatology, dermatopharmacy and cosmetology. Within its capabilities, each cosmetic company has an idea, a starting point as a driver of development and similar key steps in the development of cosmetic products, but quality and price differences are huge. Cosmetic corporations have specialized departments for all stages of development, production and sales. Financial resources invested in scientific research are equally impressive. The starting point in the development of a cosmetic product is the use of new active substances, which provide the basis for continuous market development and competitiveness. Definition of key steps in the development of a new skin product against aging is also a priority. However, in order to achieve set of goals and develop competitive, innovative cosmetic products, cosmetic corporations also create additional, emotional value for the consumer, the user of the product.

CONCLUSION

Over the past decade, significant progress has been made in understanding cellular and molecular mechanisms of aging, thus opening up opportunities for the development of new products and procedures in preventing and / or slowing down degenerative skin changes. Technological progress and constant innovation have become the main features of the modern cosmetics industry, all with the aim of improving the quality, efficiency and safety of products. Special emphasis, when it comes to introducing innovations, is placed on products designed to slow and prevent skin aging. In research and development of new anti-aging skin products, we increasingly encounter sensitive active substances. Formulation of a cosmetic product and the selection of the appropriate production process becomes one of the key factors of quality product. The development of a cosmetic product becomes increasingly complex with clearly defined targeted research and development processes, with the use of innovative technologies and scientific methods. Anti-aging skin products are one of the fastest growing segments of the skin care market. The pursuit of stricter and more restrictive regulation of cosmetic products places increasing emphasis on the responsibility of manufacturers, who must guarantee the safety of the intended purpose and

substantiate claims about their effectiveness in an appropriate manner. However, the regulation of anti-aging skin products differs significantly in European, American and other markets. In order to develop a product for the global market, it is necessary to carefully select active substances and technological production process that is in line with regulatory requirements at the global level, Cosmetic companies which have developed research and development departments and already have global recognition, remain market leaders for the 21st century.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1. Starenje kože	1
1.1.1. Intrinzično starenje kože	1
1.1.2. Ekstrinzično starenje kože	10
1.2. Teorije procesa starenja	12
1.2.1. Teorije starenja stanice (engl. cellular senescence)	13
1.2.2. Reaktivni kisikovi spojevi uzročnici staničnog starenja	14
1.2.3. Skraćivanje telomera	16
1.3. Starenje <i>in vivo</i>	17
1.3.1. Fenotip ostarjele stanice	17
1.3.2. Sistemske teorije starenja	18
1.3.3. Vraćanje biološkog sata	19
1.4. Njega protiv starenja kože lica	20
1.5. Strategije protiv starenja kože	20
1.5.1. Prevencija starenja kozmetičkim proizvodima	21
1.5.2. Aktivne tvari u kozmetičkim proizvodima	22
1.5.3. Invanzivni tretmani protiv starenja kože lica	22
1.6. Instrumentalne metode određivanja stanja kože	23
1.7. Sistemski pripravci ili nutriceutici	24
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	26
3. SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI	27
4. RASPRAVA	28
4.1. KOZMECEUTICI U TOPIKALNOJ PRIMJENI PROTIV STARENJA KOŽE	28
4.2. Antioksidansi	28

4.2.1. Vitamin A.....	30
4.2.2. Vitamin B3.....	32
4.2.3. N-acetil-glukozamin (NAG)	33
4.2.4. Vitamin C	34
4.2.5. Vitamin E	36
4.2.6. Pantenol.....	37
4.2.7. Lipoična kiselina	38
4.2.8. Ubikinon (koenzim Q10)	38
4.2.9. Idebenon	39
4.2.10. Likopen.....	40
4.2.11. Kinetin.....	40
4.2.12. Dimetilaminoetanol.....	40
4.2.13. Melatonin	41
4.3. Biljne tvari i pripravci	41
4.3.1. Ekstrakt zelenog čaja.....	42
4.3.2. Sojini izoflavoni	43
4.3.3. Sjemenke grožđa	43
4.3.4. Nar	43
4.3.5. CoffeeBerry®.....	43
4.3.6. Silimarin.....	44
4.3.7. Piknogenol.....	44
4.3.8. Ferulična kiselina	44
4.3.9. Resveratrol	44
4.3.10. Alantoin.....	45
4.3.11. N6-furfuriladenozin.....	45

4.3.12. Fotolijaza.....	46
4.4. Čimbenici rasta.....	46
4.4.1. Epidermalni faktor rasta (EFG).....	47
4.5. Hormoni u kremama protiv starenja kože	48
4.5.1. Estrogeni.....	48
4.5.2. Progesteron.....	48
4.6. Peptidi u kozmetičkim proizvodima.....	48
4.6.1. Pal-KTTKS (zaštićen naziv Matrixyl)	50
4.6.2. Survixyl IS.....	51
4.6.3. Quintescine IS	51
4.6.4. Peptidi bakra.....	53
4.6.5. Peptidi koji moduliraju neurotransmitere.....	53
4.7. Tvari za izbjeljivanje ili hipopigmentaciju kože	55
4.7.1. Hidrokinon	55
4.7.2. Kojična kiselina.....	56
4.7.3. Hidroksilne kiseline.....	57
4.7.4. Azelatna kiselina	58
4.7.5. Ekstrakt šipka (engl. <i>Pomegranate extract</i> ; PE)	59
4.7.6. Glabridin.....	59
4.7.7. Magnezij-L-askorbil-2-fosfat (MAP).....	59
4.8. Biljne matične stanice	59
4.8.1. Matične stanice jabuke (zaštićen naziv PhytoCellTec Malus Domestica).....	60
4.9. Šećerni amini.....	62
4.9.1. N-acetil glukozamin (NAG).....	62
4.9.2. Hijaluronska kiselina (HA)	62

4.10. Ceramidi	64
4.11. Metali u kozmetičkim proizvodima	65
4.12. Permeacija aktivne tvari u epidermis i dermis	66
4.13. Apsorpcija aktivne tvari	66
4.14. Moguće interakcije aktivne tvari	67
4.15. Djelotvornost aktivnih tvari kozmetičkih proizvoda	68
4.16. Kozmetička industrija status	69
4.17. Ključni koraci u razvoju kozmetičkog proizvoda	71
4.17.1. Ishodišna točka razvoja	72
4.17.2. Izbor sirovina u odabiru funkcije namjene kozmetičkog proizvoda	72
4.17.3. Generiranje ideja	73
4.18. Razvoj i testiranje koncepcije	74
4.19. Razvoj strategije marketinga	75
4.20. Poslovna analiza	77
4.20.1. Razvoj proizvoda	77
4.20.2. Formulacija kozmetičkog proizvoda	77
4.20.3. Realizacija formulacije	78
4.20.4. Testiranje tržišta	78
4.20.5. Komercijalizacija	79
4.20.6. Ciljevi i strategije u fazi uvođenja novog kozmetičkog proizvoda	79
4.20.7. Ponašanje potrošača i proces usvajanja novog proizvoda	79
4.21. Uspješna strategija razvoja kozmetičkog proizvoda	81
4.21.1. Strategija odabira sastojaka za proizvode protiv starenja kože lica - Temeljno načelo razvoja proizvoda	81
4.21.2. Naglasak na bezbrižnosti potrošača	82

4.21.3. Zajamčena sigurnost kozmetičkog proizvoda	83
4.22. Zakonska regulativa kozmetičkih proizvoda u zemljama EU	85
4.23. Deklariranje kozmetičkih proizvoda	85
4.23.1. Nanomaterijali	86
4.23.2. Konzervansi	87
4.24. Dokumentacija s podacima o kozmetičkom proizvodu	87
4.25. Proizvodnja kozmetičkih proizvoda	87
4.26. Procjena sigurnosti kozmetičkog proizvoda	88
4.27. Analiza zdravstvene ispravnosti proizvoda	89
4.28. Ispitivanje učinkovitosti konzerviranja	89
4.29. Provođenje testova stabilnosti	89
4.30. Klinička ispitivanja proizvoda i dokazivanje kozmetičkih tvrdnji	90
4.31. Odgovorna osoba za kozmetički proizvod	90
4.32. Dobra proizvođačka praksa	90
4.33. Prijava ozbiljnih neželjenih učinaka kozmetičkih proizvoda (kozmetovigilancija)	90
4.34. Granični proizvodi	91
4.35. Međunarodni regulatorni aspekti za uporabu kozmetičkih proizvoda	92
4.36. SAD	92
4.37. Japan	93
4.38. Južna Koreja	94
4.39. Zahtjevi koji moraju biti ispunjeni prije stavljanja na tržište kozmetičkog proizvoda njege protiv starenja	95
4.40. Budući trendovi u regulaciji kozmetičkih proizvoda	95
4.40.1. Nevladine organizacije	95
4.40.2. Ekološka održivost kao zakonodavni trend	96

5. ZAKLJUČAK	98
6. LITERATURA.....	100
7. ŽIVOTOPIS	120

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Starenje kože

Procesi koji utječu na starenje kože nalaze se u fokusu istraživanja zbog vidljivog utjecaja na naš svakodnevni život. Nastale promjene manifestiraju se u našem fizičkom izgledu, individualne su i može se reći da svi starimo drugačije.

Osim što se mijenja naš izgled, prvenstveno izgled našeg lica, mijenja se i fiziologija naše kože. Koža koja stari je suha, neelastična, naboranog reljefa, neujednačene pigmentacije. Najvidljivije promjene na koži lica su dinamičke promjene manifestirane kao linije ili bore nastale uslijed interakcije mimičkih mišića oko očiju, usta, na čelu i obrazima. Broj i debljina tako nastalih bora, raste progresivno sa godinama i faktorima izloženosti vanjskom okruženju.

Također kroz desetljeća života dolazi i do tzv. statičkih promjena, gubitka volumena lica. Statičke promjene nastaju uslijed atrofije epidermisa, gubitka masnog tkiva subcutisa, gubitka koštane mase, demineralizacije kostiju zbog smanjenja koncentracije kolagena u koštanim tkivima (1).

Promjene su uvjetovane prirodnim procesom starenja organizma (opadanja funkcija stanica tzv. staničnim starenjem) i također su izazvane vanjskim utjecajima kojima se svakodnevno izlažemo (ekstrinzično starenje).

U proteklom desetljeću ostvaren je značajan napredak u razumijevanju staničnih i molekularnih mehanizama starenja stanica, a time su otvorene mogućnosti za razvoj novih pripravaka i postupaka u prevenciji i/ili usporavanju degenerativnih promjena kože (2).

1.1.1. Intrinzično starenje kože

Intrinzično, biološko ili kronološko starenje kože genetski je uvjetovano stoga različito kod svake jedinke. Odvija se tijekom životnog vijeka različitom brzinom nastanka promjena. Ovisi i o našem etničkom podrijetlu s obzirom na nasljedni fototip kože.

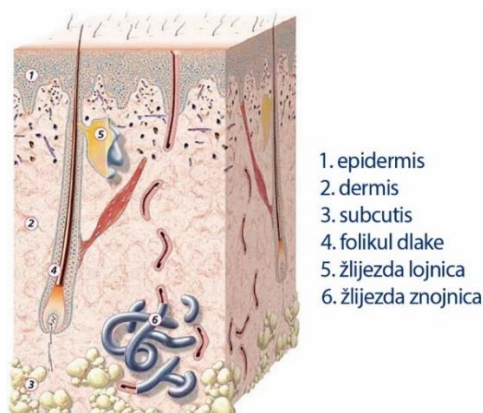
Prirodnim procesom starenja stanice, smanjuje se stanična aktivnost kao posljedica nakupljanja oštećenja uslijed staničnog metabolizma (3).

Često se proces starenja kože povezuje i sa endokrinim starenjem, promjenama hormonalnog statusa, kojem su naročito izložene žene u periodima predmenopauze, te menopauze. Vidljive su promjene na koži, a povezane su sa starenjem endokrinog sustava. Uslijed pada koncentracije estrogena i smanjenih vrijednosti hormona rasta dolazi do redistribucije supkutanog masnog tkiva. Koža se postupno stanjuje, atrofira kroz desetljeća kontinuiranih promjena. Na taj način tri histološki aktivna sloja kože gube svoju potpunu, zaštitnu ulogu te pod utjecajem gravitacijske sile koža, naročito koža lica (zbog gubitka volumena i spuštanjem mekih tkiva u donje dijelove lica dobiva obješen izgled, opuštene su obrazi i čelo, sa slabije izraženim vanjskim konturama), dobiva se tzv. oblik konkavnog lica. Tada koristimo za opis takovog izgleda lica termin gravitacijsko starenje (engl. *sagging*) (4).

U starijoj dobi koža je i pokazatelj općeg stanja organizma, te se nastanak kroničnih bolesti povezanih sa starijom dobi manifestira i na promjenama kože (5). Podložniji smo nastanku upala i infekcija, a koža je zbog svoje suhoće sklona svrbežu (6). Često je prisutan i vitaminski deficit starije dobi zbog nemogućnost apsorpcije hranjivih tvari iz obroka (kataboličko starenje) (7).

Koža se dijeli na tri histološki glavna dijela: epidermis, dermis i hipodermis (subkutis).

Uz kožu, pokrovni sustav tijela čovjeka čine i kožni privjesci (adneksi): dlake, nokti, egzokrine žlijezde (lojnice, znojnice) i živčani završetci (8).



Slika 1. Histološki presjek građe kože (preuzeto iz (8)).

1.1.1.1. Promjene u stanicama epidermisa uzrokovane procesom starenja

Osnovna značajka kože koja stari je u stanjenom sloju epidermisa koji pokazuje atrofične promijene. Tako stanjen epidermis i vizualno se manifestira na površini kože kao tanak, naboran, suh (5).

Gornji sloj kože epidermis debljine od 0,1 do 0,3 mm sastoji se od podslojeva: stratum corneum, stratum granulosum, stratum spinosum i stratum basale. Najtanji epidermis je na našem licu prosječne debljine 0,02mm.

Koža je mehanički i kemijski otporna na vanjske podražaje zbog relativno suhog, rožnatog dijela, stratum corneuma. Rožnati sloj omogućuje zaštitu od dehidracije, štetnih fizičkih i kemijskih utjecaja iz okoline. Površinski ili rožnati sloj nastaje procesom keratinizacije.

Stanice epidermisa neprestano mijenjaju svoj oblik od nastanka u bazalnom sloju do dolaska u rožnati sloj. Proces jednog turnovera traje od 4 do 6 tjedana. Sloj epidermalnih matičnih stanica, bazalni sloj, kroz stalnu staničnu diobu (proliferacija) skrbi o kontinuiranoj obnovi rožnatog sloja epidermisa (12).

Stanične promjene nastale prirodnim procesom starenja postaju vidljive na površini kože u obliku zaostalih nakupina mrtvih stanica korneocita, koji se pri 4 tjednom vremenskom razdoblju potrebnom za deskvamaciju, ne odstranjuju sa površine kože. Posljedica je smanjene proliferacije keratinocita koji zaostaju u zrnatom sloju epidermisa, mijenjaju svoj oblik, te postajući kraći i deblji. Mitotička aktivnost je smanjena, vremenski ciklus izmijene i migracije keratinocita na površinu kože je znatno produljen. Mijenja se njihov primarni fiziološki oblik što posredno dovodi do promjena strukture i funkcije epidermisa. Takva koža nije glatkog izgleda, gruba je i neujednačene boje (10).

Navedene kronološke promijene dovode i do smanjenja vlažnosti epidermisa zbog smanjene količine prirodnih čimbenika zadržavanja vlage (engl .*Natural Moisturizing Factor*, NMF) normalno prisutnih na površini kože. NMF nastaju uslijed procesa orožnjavanja (diferencijacije) keratinocita.

Voda je primarna za gipkost kože, a dio vode u gornjem rožnatom sloju mlade kože iznosi između 10% i 20% ukupnog sadržaja vode u organizmu. Bitno obilježje zrele kože lica siromašne vlagom

je smanjena količina vode, a sadržaj vlage rožnatoga sloja je često ispod 8% . Koža postaje suha, gruba i bez turgora (5).

Koža lica zbog svoje izloženosti gubi više vlage od ostalih dijelova kože.

NMF su uglavnom aminokiseline i produkti npr. filagrin koji se razgrađuje na histidin i glutamin. Glutamin se dalje mijenja u pirolidon karboksilnu kiselinu koja je izuzetno higroskopna. Histidin se neenzimskom ciklizacijom prevodi u urokansku kiselinu vlastitu fotozaštitu od UV zračenja. Ostali NMF-ovi su keratin, glukozamin, urea (16).

Za sposobnost vezanja vode značajna je proteinska struktura rožnatih stanica, posebno aminokiselina arginin. Stoga za njegu zrele kože lica siromašne vlagom nije važna samo nadoknada vlage, nego i obogaćenje prirodnim čimbenicima zadržavanja vlage kao što su aminokiseline. Te higroskopne tvari osiguravaju primjerenu njegu i dugotrajnu hidrataciju suhe kože lica.

Rožnati sloj tvori djelotvornu, nepropusnu barijeru koja ima važnu funkciju održavanja kisele pH-vrijednosti kože, a time se sprječava prodiranje mikroorganizama, kemijskih tvari i alergena (6).

Kisela pH-vrijednost rožnatog sloja igra važnu ulogu pri tvorbi i strukturiranju epidermalnih lipida, a time i propusnosti zaštitne, rožnate membrane. Ta istraživanja dokazuju da je kiseli okoliš površine kože važan za aktiviranje enzima bitnih za sintezu epidermalnih lipida, tvorbu lipidne membrane, te normalizaciju zaštitne uloge rožnatog sloja pogotovo nakon mehaničkog ili kemijskog oštećenja (9).

Fiziološka pH vrijednost zdrave kože iskazuje se srednjim vrijednostima između 5,4 i 5,9. U tom pH području koža se naseljava tipičnom kožnom florom, a patogenim mikroorganizmima onemogućeno širenje. U području pazuha, analnog nabora i genitalija karakteristična je pH vrijednosti od 6,5.

Za sintezu epidermalnih lipida značajan je kiseli okoliš kože. On je istovremeno zaslužan i za podatnost i gipkost gornjega sloja zdrave mlade kože. Starenjem se narušava barijerna funkcija kože te se pH kože povećava iznad optimalnih 5,5. Uzrok promjene vrijednosti kiselog okruženja se objašnjava pojačanom sekrecijom serin proteaza, te smanjenom sintezom epidermalnih lipida (10).

Sposobnost vezanja vode u koži u velikoj mjeri ovisi i o sastavu lipidne barijere u rožnatom sloju. Epidermalni lipidi sintetiziraju se u stanicama epidermisa iz međuproizvoda izmjene tvari ili iz esencijalnih masnih kiselina. Lipidni sastav kože čine ceramidi (40%), slobodne masne kiseline (25%) i kolesterol (25%). Sinteza važnih ceramida katalizirana je skupinom enzima kiselih hidrolaza, a zbog starenjem izazvane promjene kiselosti epidermisa dolazi do pada koncentracije enzima i smanjena je produkcija ceramida (13).

Bazalni sloj epidermisa sadrži i melanocyte. Na 4-12 bazalnih stanica nalazi se jedan melanocit. Melanociti stvaraju melanin, pigment koji štiti kožu od štetnih ultraljubičastih zraka (UV zrake) (8). Smanjenjem broja aktivnih melanocita starija koža pokazuje neujednačenu, nepravilnu pigmentaciju, često sa difuznim nakupinama nerazgrađenog melanina na površini kože koje je naročito izraženo na površini kože lica. Aktivnost melanocita se smanjuje svakog desetljeća za 8 do 10% (12).

Starija koža je podložna i upalnim reakcijama zbog smanjenog broja Langerhansovih stanica. Langerhansove stanice su podrijetlom iz koštane srži. One naseljavaju bazalni sloj epidermisa u obliku pravilno raspoređene mreže pri čemu dosežu gustoću od oko 700 do 800 stanica po kvadratnom milimetru. Nakon kontakta s odgovarajućim antigenom Langerhansova stanica napušta epidermis i limfnom strujom dopire u limfni čvorić. Na tom putu prolazi proces sazrijevanja koji vodi do prezentacije antigena na staničnoj površini. Odbačene stanice se nadomještaju odgovarajućim brojem novih Langerhansovih stanica iz koštane srži. Procesom starenja imunološki odgovor je narušen smanjenjem broja Langerhansovih stanica za 50% do 70. godine života (15).

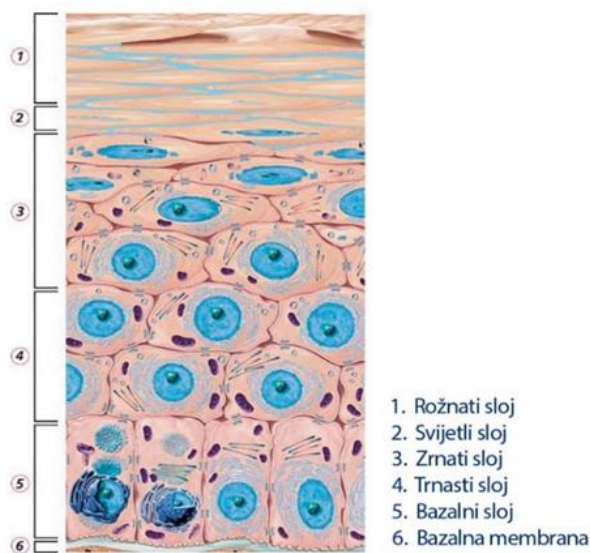
Poznavanje kemijskog sastava kože i detektiranje promjena koje se odvijaju prirodnim procesom starenja epidermisa je ključno pri razvoju formulacija kozmetičkih proizvoda. Epidermis je sastavljen od proteina (27%), masti (25%), mineralnih soli (0,5%), vode i u vodi topljivih tvari. Najzastupljeniji proteini su albumin, globulin, elastin, kolagen i keratin. U vodi otopljene tvari su pretežno aminokiseline. Na površini kože nalaze se masne kiseline (16,3%), trigliceridi (41%), digliceridi (2,2%), voštani alkoholi (25%), skvalen (12%), esteri kolesterola (2,1%) i kolesterol (1,4%). Stoga se često proteini, aminokiseline i ceramidi nalaze u kozmetičkim proizvodima njege protiv starenja.

Zrelu suhu kožu lica karakterizira nefunkcionalna razgradnja korneodezmosoma zbog koje se korneociti nakupljaju na površini rožnatog sloja. Mijenja se sastav lipidnog matriksa pri čemu se smanjuje količina ceramida. Gubitkom epidermalnih lipida i lipida iz sebuma dolazi do promjene sastava hidrolipidnog filma i barijernih lipida, koža postaje suha, gruba i prhutava. Stoga se za njegu zrele kože lica siromašne mastima koriste lipidi srodni koži, a posebnu ulogu imaju ceramidi, kolesterol i slobodne nezasićene masne kiseline (14).

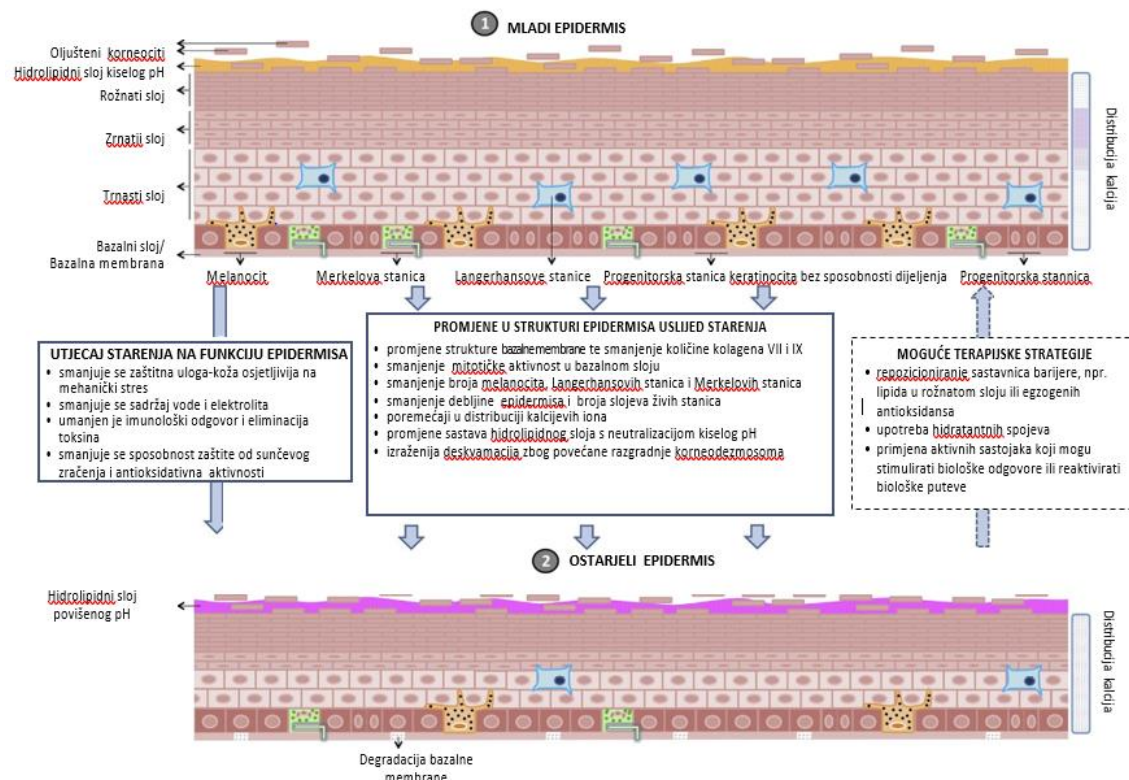
Zrela koža lica koja je siromašna mastima naginje i prijevremenom stvaranju bora, te pojavi hiperpigmentiranih mjesta formiranih u obliku mrlja. Podatnost kože opada, zaštitna funkcija je oslabljena. Nastale promijene pogoduju prodoru vanjskih štetnih tvari u organizam. Povećava se i transepidermalni gubitak vode, stoga smanjena hidratacija rožnatog sloja utječe i na umanjenu aktivnost protaza, smanjenu količinu NMF i usporeno sazrijevanje ovojnice korneocita. Posljedica je zadržavanje nezrelih korneocita na površini rožnatog sloja (16).

Stoga je poznavanje specifičnog sastava određenog tipa kože lica i tretiranje uzroka nastalih promjena ključno pri kreiranju kozmetičkog proizvoda za njegu lica (6).

Shematski prikaz epidermisa: bazalne se stanice prilikom diferencijacije pretvaraju u rožnate stanice koje su plosnate i bez jezgre.



Slika 2. Građa epidermisa (preuzeto iz (12)).



Slika 3. Molekularne, stanične i morfološke promjene povezane sa starenjem epidermisa (preuzeto iz (68)).

Kako epidermis stari, prolazi kroz niz strukturnih promjena koje izravno utječu na fiziološke funkcije kože. Moguće terapijske alternative uključuju razne oblike djelovanja aktivnih sastojaka ili spojeva. Aktivne tvari mogu pridonijeti obnavljanju narušenih fizioloških funkcija epidermisa nastalih procesom starenja ()

1.1.1.2. Dermis i promjene uzrokovane starenjem kože

Dermis pripada središnjem dijelu tkiva i sastoji se od dva sloja papilarnog i retikularnog.

Papilarni sloj (stratum papillare) prožet je kapilarnim strukturama koje čine čvrstu valovitu granicu prema epidermisu. Valovito oblikovana struktura povećava dodirnu površinu prema epidermisu. Time se, preko guste kapilarne mreže u papilama, za najdonji sloj epitela epidermisa, bazalne

stanice, osigurava optimalna opskrba hranjivim tvarima. U svakoj papili dermisa razvija se takozvana kapilarna petlja iz koje hranjive tvari mogu na male udaljenosti difundirati u bazalni sloj epidermisa. Dermalnim protokom krvi bazalne stanice epidermisa opskrbljuju se hranjivim tvarima, kao što su masti, ugljikohidrati, proteini, te dobivaju kisik (17).

Retikularni sloj (stratum reticulare) tvori donji dio dermisa koji se cijelom svojom površinom dodiruje s niže smještenim potkožnim tkivom.

Za razliku od epidermalnih stanica, stanice dermisa nisu čvrsto povezane. Izvanstanični prostor dermisa sačinjen je od izvanstaničnog matriksa bogatog glikozaminoglikanima (prvenstveno hijaluronskom kiselinom i dermatan sulfatom), mukopolisaharidima, te nitastim proteinima (kolagen, elastin).

Starenjem se narušava strukturalni integritet izvanstaničnog matriksa.

Najznačajnije promjene su promjene kolagenskih vlakana. Kolagenska vlakna postaju fragmentirana, deblja, rigidnija. Tim promjenama dermis progresivno gubi funkcionalnu sposobnost snage i elastičnosti kože. Procjenjuje se da se starenjem organizam gubi godišnje do 2% ukupne količine kolagena koji osigurava snagu i elastičnost kože.

S obzirom da se procesom starenja smanjuje broj i veličina dermalnih papilla sa 40 na 14/m² smanjuje se i dodirna površina bazalne membrane. Time je smanjena fiziološka komunikacija između epidermisa i dermisa. Posljedica je smanjena opskrba epidermisa hranjivim tvarima i kisikom (18).

Dermalni fibroblasti su osnovna sintetska jedinica dermisa i odgovorni su za održavanje fiziološke ravnoteže, homeostaze, između sinteze kolagenskih vlakana i enzima njihove razgradnje, metaloproteaze ili najvažnije matriksne metaloproteaze¹, MMP-1. Metaloproteaze su proteolitički enzimi neophodni u održavanju homeostaze dermalnog tkiva. Za sprječavanje degradacije kolagenskih vlakana bitna je održiva ravnoteža između MMP-1, te inhibitora iste, TIMP-1.

Starenjem dermalnih fibroblasta ta je enzimska ravnoteža nepovratno narušena. Fibroblasti propadaju zbog nakupljenog viška nusproizvoda razgradnje kolagenskih vlakana. Stanjena je kolagenska mreža vlakana, čime se objašnjava stvaranje bora prvenstveno zbog gubitka elastičnosti dermisa, koji postaje atrofiran (19).

Stanjenje bazalne membrane biološkim procesom starenja dovodi do daljnjeg odvajanja epidermisa i dermisa, čime se gubi potpora dermisa, te koža postaje osjetljivija na mehaničke podražaje.

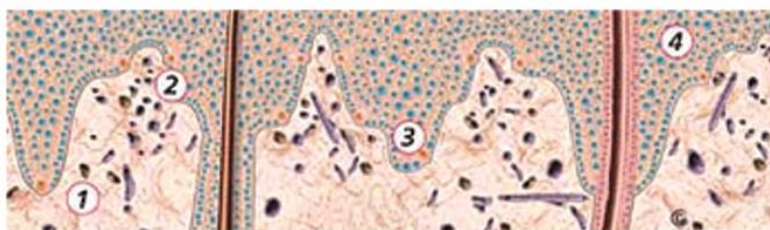
Smanjena aktivnost fibroblasta dovodi do umanjene sposobnosti obnavljanja elastinskih vlakana, njihove pojačane kalcifikacije i rigidnosti, čime se gubi elastičnost vezivnog tkiva dermisa (20).

Hijaluronska kiselina je također proizvod dermalnih fibroblasta, a izložena je procesom starenja pojačanoj razgradnji enzimom hijaluronidaze. Njena koncentracija se smanjuje tijekom života od 0,7mg/100mg kože, koju ima zdravo dijete do 0,3mg kod žene dobi od 60 godina (21).

Svojom strukturom sposobna je vezati do 10000 puta veću količinu vode od svoje molekularne mase. Odgovara za hidrataciju dermisa i održavanje turgora kože.

Zbog svojih viskoznih karakteristika često se koristi u kozmetičkoj industriji gdje topikalno nanijeta na lice tvori zaštitni hidratantni omotač. Time se koži omogućuje očuvanje mekoće, hidratacije i elastičnosti, te se vizualno doima zdravijom i mlađom (22).

Dermis sadržava mnogobrojne krvne i limfne žile, živčane završetke, receptore hladnoće i topline kao i osjetila dodira, žlijezde lojnice, žlijezde znojnice, dlake te erektorske mišiće dlaka (17). Starenjem dermisa dolazi i do smanjenog izlučivanja znoja i sebuma, te do usporene sinteze neutralnih lipida na površini kože. Koža je suha, naborana sa poremećenom termoregulacijom (smanjena gustoća kapilara) i smanjenom osjetilnom percepcijom (zbog razgradnje Paccinijevih i Meissnerovih tjelešaca), a zbog smanjenog broja živčanih završetaka ne dolazi do pravovremene reakcije na opasnost, postoji velika opasnost od nastanka ozljeda (18).



Stratum papillare tvori čvrstu valovitu granicu prema epidermisu.

1. stratum papillare
2. bazalna membrana
3. bazalne stanice
4. epidermis

Slika 4. Građa dermisa (preuzeto iz (12))

1.1.1.3. Hipodermis i promjene uzrokovane starenjem

Hipodermis ili subcutis (sub, lat. ispod + cutis, lat. koža) je potkožno tkivo koje se sastoji od rahlog vezivnog tkiva i adipocita (masnih stanica) kao skladišta energije.

Adipociti su spremište za masti, a ujedno su naša termička izolacija i zaštita od mehaničkih udaraca. Masne stanice su okupljene u veće jastučaste nakupine međusobno povezane kolagenskim vlaknima, takozvanim vezivnim septama.

Subcutis je prožet gustom kapilarnom mrežom čime se prema potrebi organizma omogućuje brži transport uskladištenih hranjivih tvari (23).

Starenjem se broj aktivnih adipocita smanjuje, te dolazi do preraspodjele masnog tkiva kože, koje kod muškaraca i žena nije jednako izraženo (24).

1.1.2. Ekstrinzično starenje kože

Promjene starenja kože se primarno pogoršavaju izravnim utjecajem nepovoljnog okoliša

Starenje izazvano vanjskim utjecajima na kožu karakterizirano izgledom zadebljale kože lica sa izraženim dubokim borama, nazivamo ekstrinzičnim ili uvjetovanim vanjskim faktorima (25).

Za razliku od manifestacija ekstrinzičnog starenja, koža lica kod intrinzičnog, prirodnog procesa je tanka, atrofična (26).

Ekstrinzično starenje kože je ubrzan stanični proces, a ujedno djeluje ekscitirajuće na prirodan kronološki proces. Ulaskom u treće desetljeće života koža počinje pokazivati vidljive promjene što je prvenstveno utjecaj izloženosti okolišu, ali i brojnim drugim faktorima.

Bihevioralno starenje, je proces starenja uvjetovan našim odabirom korištenja štetnih tvari i izloženosti okruženju, koje ubrzano izazivaju stanično propadanje (nikotin, alkohol, opijati, neadekvatna prehrana) koje je posebno vidljivo na koži lica (27).

Ozon koji je jedan od najtoksičnijih zagađivača okoliša nastaje interakcijom dušikovih oksida i hlapljivih organskih spojeva izloženih UV zračenju. U reakciji s nezasićenim lipidima površine kože proizvodi reaktivne kisikove spojeve. Time dovodi do kaskade straničnih stres reakcija u dublje slojeve kože, inducira nastanak upalnih procesa i ubranog procesa starenja kože (27).

Dokazano je kako pušači izgledaju starije od nepušača. Veza između pušenja i stupnja naboranosti kože lica dokazana je u velikom broju epidemioloških studija. Studije su pokazale pušači imaju više bora na licu, u usporedbi s odgovarajućom kontrolnom skupinom. Pušenje smanjuje opskrbu epidermisa hranjivim tvarima, čime je epidermis u kroničnoj hipoksiji (28, 29).

Aktiničko starenje (fotostarenje) zovemo starenje kože inducirano UV zračenjem. UV zračenje je uzročnik ubrzanog ekstrinzičnog starenja kože koja je bila dugotrajno, nezaštićena i izložena suncu. Za razliku od zadobivanja opekline ili tamnjenja kože sunčanjem, fotostarenje kože uzrokovano je desetljećima izlaganja UV zrakama (30).

UVB zrake valne duljine 280-320 nm čine 5% UV zračenja koje dopire do Zemljine površine. Prodiru do bazalne membrane epidermisa, gdje primarno oštećuju DNK stanice keratinocita i melanocita. Time dovode do nastanka crvenila, eritema, opekline ovisno o akutnoj osjetljivosti svakog pojedinca na zračenje (minimalnoj količini UVB zračenja koja će uzrokovati crvenilo), te ujedno do fotoimunosupresije Langerhansovih stanica. Izostaje imunološka reakcija i stanični odgovor na izloženost UVB zrakama (31). Dugotrajna izloženost UVB zrakama bez adekvatne zaštite povezuje se sa nastankom prekancerogenih promjena u bazalnom sloju epidermisa.

UVA zrake valne duljine 320-400 nm čine više od 95% ukupnog UV zračenja koje pristiže na Zemlju su slabije energije fotona svjetlosti, pa prolaze kroz epidermis i dermis, do subkutisa.

UVA fotoni prolaskom kroz slojeve kože epidermisa i dermisa uzrokuju mutacijske promjene na vrlo osjetljivim mitohondrijskim DNK fibroblasta, UVA zrake zbog činjenice da zauzimaju značajno veći postotak ukupnog UV zračenja i da prodiru dublje do potkožnog tkiva, zaslužne su za inducirano fotostarenje kože. UVA zrake visoko su rizične u produkciji reaktivnih kisikovih spojeva koji dovode do preuranjenog staničnog starenja kože, a koje je u direktnoj povezanosti sa prerano ostarjelom, naboranim izgledom kože. Stoga će pojedinci koji imaju životni stil na otvorenom ili žive u osunčanim klimatskim područjima doživjeti najveći stupanj fotostarenja.

Oksidacijski stres ili nastala fotooksidacijska oštećenja smatraju se osnovnim mehanizmom u procesu fotostarenja. Nastaju reaktivni kisikovi spojevi tj. slobodni radikali, atomi ili molekule s nesparenim elektronom kao što su superoksidni anion, peroksid radikal te hidroksil radikal. Reaktivni kisikovi spojevi aktiviraju različite signalne putove unutar stanica povezanih s rastom, diferencijacijom i degeneracijom vezivnog tkiva kože.

Epidermis postaje zadebljan. U dermisu se razvija solarna elastoza karakterizirana razgradnjom, degradacijom elastinskih i kolagenskih vlakana zbog propadanja fibroblasta (32).

Sve uočene promijene fotostarenja dovode do prerano ostarjele kože lica koja je u stanju kroničnog upalnog procesa (heliodermatitis) (33) .

Sve navedene promjene u epidermisu i dermisu uzrokuju različite karakteristike fotoostarjele kože lica, kao što su hrapave duboke bore, bljedilo sa pojačanom pigmentacijom, gubitak elasticiteta kože, suhoća te vrlo upečatljiva gruba tekstura kože lica (34).

Izlaganjem sunčevom zračenju najviše je izloženo područje lica, vrata, dekoltea, šaka, ruke, te u manjoj mjeri noge. Stoga su proizvođači kozmetičkih proizvoda njege protiv starenja kože fokusirani na primjenu proizvoda na područje lica, vrata , dekoltea i posebno za njegu ruku sa visokom SPF zaštitom.

1.2. Teorije procesa starenja

Trenutno se u PubMed elektronskoj bazi podataka nalazi više od 230 000 znanstvenih radova povezanih s različitim aspektima starenja. Iako je značenje pojma starenja poznato, sveobuhvatnu definiciju samog fenomena teško je dati, jer je starenje jedan od najsloženijih bioloških procesa (35).

Starenje se definira kao progresivno narušavanje svih fizioloških funkcija organizma koje dovodi do smrti. Dokazano je da je starenje je univerzalno za jedinke iste vrste kao i prosječan životni vijek, stoga se i oblik starenja razlikuju među vrstama. Starenje je praćeno povećanim mortalitetom, ali starenje nije bolest (36,37).

Jedna od najinteresantnijih karakteristika starenja sisavaca je da većina vrsta stari na sličan način i pati od sličnih bolesti , usprkos velikim razlikama u duljini života. Imajući u vidu značajnu heterogenost ostarjele populacije i kompleksnost fizioloških procesa koji se pri tome javljaju, jasna vremenska granica početka starosti nije moguća. Starenje započinje u nepoznatom periodu života zrele osobe i progresivno se odvija na različite načine ovisno o nasljednim, genetskim i vanjskim

faktorima individualne izloženosti. Kod čovjeka, starošću se konvencionalno smatra životno doba koje počinje oko 65. godine i završava se smrću (36).

U znanstvenoj literaturi poznato je više od 300 različitih teorija starenja koje pokušavaju objasniti zašto eukarioti stare i umiru. Najveći problem koji se pokazao u formiranju koherentne teorije starenja je nemogućnost jasnog sagledavanja uzroka kojim započinje proces. Zbog izuzetne složenosti procesa starenja isključena je odgovornost univerzalnog mehanizma uzroka procesa starenja. Svi detektirani podaci za sada ukazuju da su starenje i smrt rezultat brojnih interakcija na genetskom nivou i pod snažnim utjecajem vanjske sredine (37).

Teorije starenja najčešće se dijele prema svom primarnom utjecaju na proces starenja.

1.2.1. Teorije starenja stanice (engl. cellular senescence)

Hipoteza slobodnih radikala jedna je od najpoznatijih teorija starenja. Teorija dokazuje da slobodni radikali oštećuju stanične makromolekule i dovode do starenja stanice i na kraju do njene smrti. Stanice su osnovne strukturne jedinice organizma i pretpostavka da njihovo starenje i propadanje doprinosi starenju organizma u cjelini.

Kronološko starenje kod ljudi može biti rezultat slabljenja staničnih procesa odgovornih za kontinuiranu obnovu stanica, gubitak ili nemogućnost nadoknade postmitotičke stanice, te nastanak oštećenja sigurnosnih staničnih mehanizama koji omogućuju preživljavanje stanica s genetskim poremećajima (39).

Do 1961. godine podrazumijevalo se da se stanice u kulturi mogu neograničeno dijeliti, ali su kasnije spoznaje dokazale su da se ljudske stanice koje potječu iz embrionalnog tkiva, u kulturi dijele konačnim i određenim brojem puta. Taj se fenomen naziva replikacijsko doba (RS) ili stanična starost (stanično starenje) (40).

RS je otkrivena u fibroblastima vezivnog tkiva a kasnije je prikazana na velikom broju stanica. Na primjer, stanice kornjače Galapagos, koja živi preko 100 godina, u prosjeku se podijelile oko 110 puta, dok su se stanice miševa uspjele podijeliti oko 15 puta (41).

Stanice uzete od pacijenata oboljelih od progresivnog Wernerovog sindroma, jednog oblika ubrzanog starenja organizma, uspjele su se replicirati u kulturi manje puta od normalnih stanica ljudskog organizma. Svaka stanica organizma ima svoj biološki sat koji im određuje duljinu replikacijskog vijeka Proliferacijski kapacitet stanica fibroblasta je ograničen jer je dokazano da

mladi fibroblast ima sposobnost replikacije 25 do 50 puta za života, a nakon toga nastupa stanično starenje. Time je uvjetovan početak starosne promjene dermisa.

Stanice postaju biološki neaktivne jer prestaju sa daljnjim staničnim diobama. Takva biološki neaktivna stanica naziva se stara, senescentna. Broj senescentnih stanica prirodnim starenjem organizama i tkiva se povećava dok stanicu karakterizira senescentni fenotip kojim se objašnjavaju promjene strukture i funkcije ostarjele stanice .

Ostarijele stanice pokazuju određene funkcionalne i morfološke karakteristike koje se nazivaju i biomarkerima zbog nastalih promjena u ekspresiji gena (42).

Morfološke promjene senescentne stanice karakterizirane su povećanjem veličine stanice, aktivnost enzima β galaktozidaze je povećana, česta je pojava aneuploidije (tri ili više kromosoma), dolazi do mutacije mitohondrijske DNK (mtDNK), te je povećana aktivnost metaloproteaza, enzima odgovornih za razgradnju izvanstaničnog matriksa dermisa (41).

1.2.2. Reaktivni kisikovi spojevi uzročnici staničnog starenja

Dvije grupe slobodnih radikala koji nastaju u organizmu su: najprisutniji slobodni radikali kisika (ROS, akronim od engl. *reactive oxygen species*) (43) i slobodni radikali dušikovih spojeva (RNS, od engl. *reactive nitrogen species* (44)). Dušikov monoksid (NO) je glavni RNS (45).

U normalnim fiziološkim procesima većina staničnih ROS nastaje u mitohondrijama, procesom oksidativne fosforilacije. Prisustvo ROS u stanicama je veliki izazov za biološke sustave kompenzacije jer ROS zbog velike reaktivnosti mogu neselektivno narušavati građu esencijalnih makromolekula (proteini, lipidi i DNK), dovodeći do disfunkcije fizioloških sustava i ugrožavanja staničnog integriteta. Reaktivni kisikovi spojevi dovode do oštećenja DNK stanica keratinocita i fibroblasta. Posebno osjetljiva na štetno djelovanje reaktivnih kisikovih spojeva je mitohondrijska DNK, s vrlo niskom mogućnosti popravka.

Zbog svoje anatomske lokacije i fizioloških karakteristika, koža je najizloženija razaranju slobodnim radikalima. Starenjem dolazi do pretjerane izloženosti oksidacijskom stresu zbog nepovratno izgubljene sposobnosti stanične neutralizacije nastalih slobodnih radikala (46,47).

Dolazi do oštećenja stanične membrane, njeni nezasićeni lipidi peroksidiraju , a time se ugrožava zaštitan uloga hidrolipidne barijere epidermisa (48).

Oštećenje stanične DNK i nemogućnost popravka dovodi do promjene genetske strukture, te do stanične smrti, apoptoze.

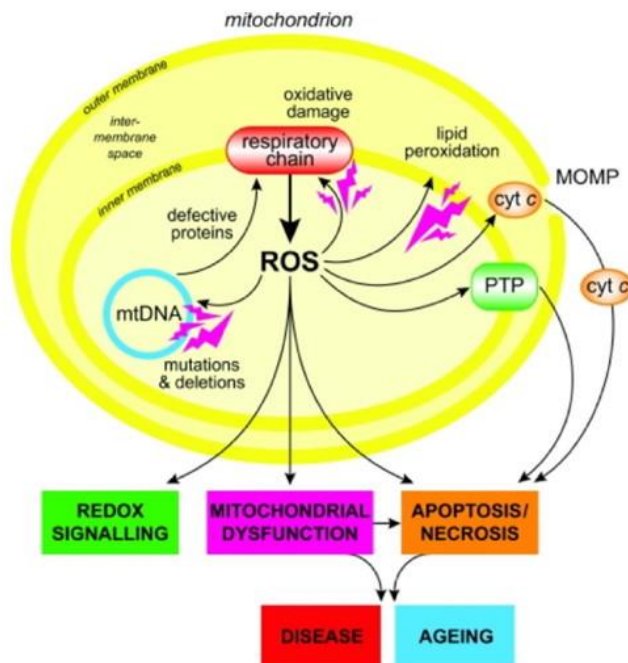
S druge strane, ROS imaju pozitivnu fiziološku ulogu u raznim biološkim procesima, npr. u imunološkom odgovoru na ulazak patogena u organizam. Stanice su razvile mehanizme koji precizno održavaju ravnotežu između stvaranja i uklanjanja ROS u cilju obrane od oksidacijskog stresa. Ti obrambeni antioksidacijski sustavi uključuju enzime koji su zaduženi za neutralizaciju određenog ROS-a.

Jedan antioksidansni sustav čini nekoliko enzima i proteina, od kojih najznačajniju ulogu ima superoksid dismutaza (SOD) koja specifično inaktivira superoksidne radikale konvertirajući ih u H_2O_2 , koji pod uticajem staničnih katalaza prelaze u vodu (47).

Drugi antioksidansni sustav čine, tzv. „hvatači” ili „čistači” ROS, prisutni u milimolarnim koncentracijama u stanici (vitamin C, tokoferol, β karoten, glutation, bilirubin, lipoična kiselina, polifenoli, melatonin, estradiol).

Različiti i brojni egzogeni utjecaji, kao što su ionizirajuće zračenje, toksične tvari iz okoline, infekcije patogenim mikroorganizmima, UV zračenje, lijekovi, sastojci hrane, mogu povećati sintezu ROS. Kad količina ROS nadvlada stanični zaštitni kapacitet sustava antioksidansa dolazi do pojave toksičnih efekata u stanicama i tkivima. Prema teoriji slobodnih radikala, ROS su glavni uzrok starenja (46).

Često spominjana restrikcija dnevnog unosa kilokalorija, kao jedna od široko proučavanih teorija preuranjenog starenja, smanjuje stupanj oksidativnog oštećenja u tkivima, dijelom zbog redukcije proizvodnje ROS u mitohondrijama stanica (48).



Slika 5. Proces nastanka oštećenja mitohondrija izazvanih ROS (preuzeto iz (48)).

1.2.3. Skraćivanje telomera

Posljednja otkrića staničnog starenja snažno podupiru teoriju prema kojoj je skraćivanje telomera glavni molekularni mehanizam koji ograničava rast normalnih stanica, te im se zbog toga pridaje ključna uloga u procesu starenja stanica. (50).

Telomere su repetitivne (ponavljajuće), nekodirajuće sekvence DNK na krajevima linearnih dijelova kromosoma (51). Telomere svih kralježnjaka sastoje se od dvostrukih lanaca sekvence 5'TTAGGG3', koje se ovisno o vrsti ponavljaju nekoliko stotina do više tisuća puta (52). DNK telomera se na 3'kraju završava jednostrukim lancem nukleotida koji se savija unatrag u strukturu koja se naziva T-petlja (53).

Telomere imaju centralnu ulogu u molekularnom procesu staničnog starenja štiteći završetke DNK kromosoma od degradacije, fuzije ili ulaska u procese reparacije. Na taj način, telomere sprečavaju gubitak genetskog materijala i genetsku nestabilnost, štite stanicu od propadanja ili eventualne maligne transformacije (53).

Telomere čuvaju kromosomsku stabilnost i pouzdano prenošenje kompletnog genetskog materijala u stanice prilikom njihove diobe. To je mehanizam progresivnog skraćivanja tijekom svake stanične diobe, pri kojima telomere gube svoj TTAGGG ponavljajući slijed (54).

Pokazano je da se starost stanica može detektirati duljinom telomera, što je stanica starija telomere su kraće. Kada se telomere skrate do određene kritične duljine pri kojoj više ne mogu formirati T-petlju, dostiže se tzv. Hayflick-ova granica nakon koje stanice ireverzibilno gube sposobnost diobe i ulaze u RS (55). Smatra se da su skraćene, disfunkcionalne telomere jedan od glavnih uzroka RS. Staničnim starenjem sprječava se daljnja dioba a time se smanjuje rizik od nastanka genetske nestabilnosti i maligne transformacije (53).

1.3. Starenje *in vivo*

Za gerontologe, proces starenja *in vivo* je od primarnog značaja i zato se nameće pitanje da li RS stanica, fenomen koji egzistira u uvjetima *in vitro*, postoji i u uvjetima *in vivo* i ako postoji kakve su posljedice prisustva ostarjelih stanica u tkivima i organima (35).

Za sada nije utvrđena direktna uzročna veza između starenja stanica i stanične smrti, s jedne strane, i starenja organizma. Međutim, postoje brojni posredni dokazi da oba procesa doprinose starenju organizma.

1.3.1. Fenotip ostarjele stanice

Ostarjele stanice javljaju se u tkivima čovjeka koja su podložnija utjecaju stresa, kao što su vene donjih ekstremiteta, prostata, kosti, zglobovi i koža (56).

Ostarjela stanica ima karakterističan fenotip, a to su ireverzibilni prestanak proliferacije, neosjetljivost na signale koji izazivaju apoptozu i promjene u funkcijama diferencirane stanice. Prestanak procesa stanične proliferacije je najupadljivija karakteristika ostarjele stanice. Posljedica je represija gena koji su neophodni za odvijanje staničnog ciklusa jer je zaustavljena dioba stanica kao početni znak starenja (57).

Apoptoza je u mladosti zaštitni mehanizam protiv razvoja malignih tumora. Tijekom starenja neke mitotički aktivne stanice (fibroblasti, T stanice), postaju neosjetljive na stimulusne koji normalno izazivaju apoptozu, dolazi do njihove akumulacije i povećanja broja oštećenih i disfunkcionalnih stanica u tkivima (58).

Apoptoza i stanična nekroza intenziviraju se tijekom procesa starenja porastom oksidativnog ili nekog drugog tipa stresa koji dovode do progresivnog oštećenja stanice, iscrpljuju stanične rezerve antioksidativne zaštite, a za posljedicu izazivaju atrofiju ili staničnu degeneraciju.

Funkcionalne promjene ostarjele stanice uključuju i povećanu sekreciju molekula koje su štetne za strukturu i integritet okolnih tkiva .

Ostarjele stanice izlučuju proteaze, proinflamatorne citokine (IL-1), faktore nekroze tumora (TNF) i faktore rasta. Proteaze direktno, a druge molekule indirektno oštećuju stanične strukture tkiva (59).

1.3.2. Sistemske teorije starenja

Sistemska teorija starenja bazira se na veličini organizma i eventualne ovisnosti veličine organizma i duljine očekivanog životnog vijeka. Začetnik sistemske teorije starenja je fiziolog Max Rubnek koji je 1908. godine otkrio odnos između veličine tijela, intenziteta metabolizma i dužine očekivanog života. Dugovječnije životinjske vrste u prosjeku su veće i troše manje kilokalorija po jedinici tjelesne mase (60).

Hipoteza o potrošnji energije pretpostavlja da se životinje rađaju sa ograničenom količinom energije ili fiziološkog kapaciteta, čije brzo iscrpljivanje dovodi do ranije smrti (39). Ta hipoteza je evoluirala u teoriju brzine ljudskog života jer što je brži stanični metabolizam, brži su biokemijski procesi i organizam ranije umire. Ova teorija je u skladu sa karakteristikama života sisavaca kod kojih je duži životni vijek povezan sa sporim odrastanjem i sazrijevanjem, praćen relativno sporom reprodukcijom (61).

Sistemska teorije starenja u osnovi sažima međusobnu povezanost glavnih kontrolnih sistema (živčani, endokrini i imunosni sustav).

Međutim, sistemske teorije ne objašnjavaju što je uzrok starenja samih kontrolnih sustava (61).

Paradigma utjecaja starenja endokrinog sustava je menopauza i posljedice na razini reproduktivnih organa, koštanog tkiva i zglobova, kardiovaskularnog sustava i kože.

Imunološka teorija starenja se temelji na značajnim promjenama u imunosnom sustavu kojim se imunološki odgovor mijenja tijekom godina i posljedica je involucije timusa. Imunološki odgovor T i B stanica na utjecaj vanjskih antigena je smanjen, dok je odgovor na vlastite antigene organizma povećan. Takve promjene u imunosnom sustavu odgovorne su za povećanu učestalost infekcija, nastanak karcinoma i povećanje indicije autoimunih bolesti u starijoj dobi (62).

1.3.3. Vraćanje biološkog sata

Produženje životnog vijeka ne znači usporavanje fundamentalnih procesa starenja.

Iako je očekivan ljudski život u posljednjih sto godina udvostručen, nema dokaza da je biološki proces starenja usporen. Živimo dulje zbog smanjenog mortaliteta od infektivnih bolesti.

Danas ne postoji prava „antiage” medicina i „anti-age” terapija prvenstveno zbog toga što uzroci i mehanizmi starenja nisu u potpunosti poznati. Kao moguće intervencije u cilju odlaganja i usporavanja starenja, a možda i liječenja u literaturi se navode genska terapija i terapija matičnim stanicama (39).

Tehnologije koje bi omogućile ovakve intervencije u stanične procese starenja su u začetku.

Starenje je i dalje velika enigma. Značajni pomaci u odlaganju i usporavanju starenja, kao i uspješno liječenje bolesti koje su najčešći uzrok smrti starijih ljudi, mogu se očekivati tek

kada se spoznaju fundamentalni procesi odgovorni za fiziološko starenje na molekularnom i staničnom nivou.

Do tada, pravilnom ishranom, odgovarajućom njegom kože, fizičkom aktivnosti, izbjegavanjem štetnih navika, umjerenim načinom života i redovitim kontrolama zdravlja, možemo odložiti ili u najboljoj mjeri spriječiti nastanak nekih bolesti, ali proces starenja i samu starost nikako (2).

1.4. Njega protiv starenja kože lica

Kozmetički proizvod je svaka tvar ili smjesa tvari koja je namijenjena dodiru s vanjskim dijelovima ljudskog tijela (koža, kosa i vlasište, nokti, usnice i vanjski spolni organi) ili sa zubima i sluznicom usne šupljine isključivo ili prvenstveno radi njihova čišćenja, parfimiranja, i/ili zaštite i održavanja u dobrom stanju, mijenjanja njihova izgleda i/ili korekcije tjelesnih mirisa. Kozmetički proizvodi namijenjeni su zdravim pojedincima u svrhu održavanja higijene i brige za vlastiti izgled (63).

Produljenje očekivane životne dobi glavni su indikator u rastu tržišta kozmetike protiv starenja kože lica pri čemu kozmetičke tvrtke stalno razvijaju i stavljaju na tržište nove proizvoda za koje tvrde da su sinonim u borbi protiv starenja kože lica. Izloženost medijskim napisima sve u svrhu promoviranja i postizanju njegovanog i lijepog izgleda postaje konstanta za društvo u kojem živimo (64).

Koža lica je najtanji dio na tijelu osim onog oko vjeđa, što znači da je kožu lako ozlijediti, ali i lako zaliječiti. Lice je najsloženije i najizazovnije područje našeg tijela, ujedno naša slika u odnosu prema socijalnom okruženju, odraz naše ličnosti, ponekad indikator našeg zdravlja i najvažniji pokazatelj životne dobi.

Najviše kozmetičkih proizvoda je za primjenu na području lica, ali su zbog visoke učestalosti estetskih traženja u korekcijama lica u porastu su i dermatološke neinvazivne i invazivne metode namijenjene pomlađivanju (64). Ovdje se ubrajaju postupci i metode namijenjene uklanjanju bora, postizanju glatkoće kože, te ujednačavanju pigmentacije, odnosno osvjetljivanju tamnih mrlja na koži (65).

1.5. Strategije protiv starenja kože

Naime, upravo zbog same činjenice da su zdravlje kao i ljepota jedni od principijelnih faktora u postizanju željene kvalitete života i pokazivanju socijalnog statusa, posljednjih desetljeća sve intenzivnije se razvijaju metode i pristupi koji se mogu objediniti pod zajedničkim nazivom „anti-age“. Anti age podrazumijeva borbu protiv starenja kože lica u svrhu smanjenja postojećih ili sprječavanje nastanka bora i ostalih vidljivih znakova starenja te za pomlađivanje izgleda kože (66).

Pripravci koji se razvijaju u kozmetičke svrhe spadaju u segment estetskog aspekta. Globalni konzumenti kozmetičkih proizvoda njege lica u borbi protiv starenja kože i dalje tragaju za novim rješenjima koji bi im omogućili održanje što mladolikijeg izgleda. Na taj način je i kozmetička industrija snažno involvirana u potražnji novih rješenja.

Naglašava se kako su tri primarne strukturne komponente dermisa (17), odnosno kolagen, elastin i glikozaminoglikani, targetirani subjekt većine istraživanja koja se tiču razvoja kozmetičkih proizvoda protiv starenja. Smanjenje proizvodnje kolagena u dermisu je najodgovornije za pojavu prvih vidljivih znakova starenja jer se ukupan sadržaj kolagena po jedinici površine kože smanjuje za oko 1% godišnje. Temeljna zadaća brojnih kozmetičkih tretmana i kozmetičkih proizvoda njege protiv starenja kože lica je zaustaviti propadanje kolagenske strukture u svrhu redukcije nabiranja kože i pojave bora na licu, vratu i dekolteu (65).

Sukladno svemu do sada navedenome vidljivo je kako je moguće predložiti program strategija koje su namijenjene za prevenciju i liječenje starenja kože .

Kao što je ranije pojašnjeno koža koja je bila izložena višegodišnjem sunčevom zračenju pokazuje znakove solarne elastoze.

To je karakteristično oštećenje epidermisa i dermisa nastalo uslijed akumulacije djelomično razgrađenih elastinskih vlakana u gornjem sloju dermisa . Smatralo se da su promjene kod solarne degeneracije ireverzibilne, da bi danas bilo poznato da prekid izlaganja suncu i primjena visokih SPF može dovesti do reparacije aktiničkih oštećenja kože. I kod već uznapredovanih faza solarne degeneracije lokalnim keratolicima (retinoična kiselina , alfa-hidroksi kiseline) , te abrazivnim metodama (dermoabrazija, kemijski peeling, laserski resurfacing) moguće je potaknuti stvaranje novih kolagenih i elastičnih vlakana dermisa i uložiti stupanj solarne degradacije (66).

1.5.1. Prevencija starenja kozmetičkim proizvodima

Prva od strategija sprječavanja prijevremenog starenja se odnosi na proces uključivanja prevencije fotostarenja uz upotrebu proizvoda za sunčanje sa širokim spektrom kemijskih te fizikalnih filtera i visokom SPF zaštitom, uz razvijanje svijesti, redovitu edukaciju potrošača o štetnosti sunčevog zračenja bez adekvatne zaštite. Ujedno se u sve proizvode dnevne njege kože lica u borbi protiv starenja kože inkorporiraju širokospektralni filteri SPF 20 ili 30 (66).

1.5.2. Aktivne tvari u kozmetičkim proizvodima

Druga strategija preporuča primjenu aktivnih tvari (antioksidansi, vitamini, hidroksilne kiseline i sl.) u formulacijama protiv starenja kože lica u svrhu poboljšanja već vidljivih promjena starenja (67, 68)

1.5.3. Invazivni tretmani protiv starenja kože lica

Korektivna dermatologija novija je grana dermatologije koja se intenzivno razvija tijekom posljednjih desetljeća. Rastući trend održavanja mladenačkog izgleda i sprječavanja preuranjenog starenja kože, usporedno s razvojem kozmetičke tehnologije, rezultira porastom broja korektivnih zahvata kojima se postižu brzo vidljivi rezultati uz kratko vrijeme oporavka te vrlo malen rizik od nastanka komplikacija i nuspojava. Ovisno o indikaciji, danas se najčešće primjenjuju kombinacije različitih korektivnih zahvata. Valja naglasiti veliku odgovornost liječnika specijalista dermatologa, koji mora biti svjestan važnosti individualnog pristupa svakom pacijentu (69).

Invazivni tretmani mogu biti bolni i uključivati vrlo agresivne tvari dok proces oporavka može potrajati i tjednima. Glavni naglasak je na obnovi epidermisa jer se nastoji potaknuti formacija novog kolagena u dermisu. Navedeni tretmani su skupi stoga nedostupni širokoj populaciji. Ujedno su i zbog agresivnosti postupka često zadnja metoda izbora pri odabiru strategije protiv starenja kože lica. Primjer su laserski tretman postižu željene rezultate u kraćem vremenskom periodu i uz znatno veći trošak i rizik (69,70).

Pri kroničnom stadiju ostarjele kože preporučuju se i dodatni invazivni tretmani, kao što su kemijski pilinzi sa visokim koncentracijama odabrane djelotvorne kiseline npr. 20-70% udjela glikolne kiseline, 10-30% salicilne kiseline ili 15-30% trikloroctene. Tim se postupkom uzrokuje kemijska ablacija kožnih slojeva. Kod navedenog se nakon upalnih procesa epidermisa i dermisa regeneracijskim mehanizmom postiže ujednačen izgled te čvrsta koža (71).

Invazivna metoda fotopomlađivanja se primjenjuje laserskim sistemima ablativnim i neablativnim (stimuliraju dermis). Postižu se dobri rezultati ukoliko se na temelju dobre indikacije izabere i dobar tip lasera. Vrlo često se preporučuje i uporaba procesa mikrodermoabrazije, također i fotodinamsko pomlađivanje intenzivom pulsnom svjetlosti (IPL). Selektivne kao i toplotom inducirane metode namijenjene pomlađivanju kože koje uzrokujući denaturalizaciju dermalnog kolagena dovode do posljedičnih sinteza novog kolagena (72).

Dermalni fileri su najzastupljenija invazivna metoda injektiranja biokompatibilnih sastojaka kao što je kolagen, hijaluronska kiselina, a u svrhu prikrivanja znakova starenja kože i popunjavanja izraženijih bora (74,75,76). Najpopularnija metoda odgađanja starenja je uporaba botoksa (*Botulinum A exotoxin*) mikroinjekcijama na područje nastanka mimičkih bora (77).

U novije vrijeme popularna je i metoda pomlađivanja ubrizgavanjem matičnih stanica i faktora rasta u kožu iz vlastite krvi kako bi došlo do obnove kože i potkožnog tkiva.

1.6. Instrumentalne metode određivanja stanja kože

Lice je stalno vidljivo i najizloženiji dio ljudskog tijela, koji neprestano izražava svoj doživljaj svijeta i drugih ljudi, a istovremeno predstavlja osobni socijalni identitet.

Ovdje je nužno detektirati rane znakove starenja kože. Detekciju je potrebno napraviti dok se još proces starenja može na neki način zaustaviti, odnosno dok se može na određen način minimizirati. Riječ je o znakovima starenja na koži, licu ili tijelu.

Inovativne metode koje omogućuju neinvazivna ispitivanja kože pri kliničkoj procjeni učinkovitosti različitih kozmetičkih pripravaka.

Barijera i integritet kože mogu se promatrati kroz transepidermalni gubitak vode, sadržaj vode u rožnom sloju, transkutani fluks ugljikovog dioksida i kisika i transepidermalni fluks iona, osobito kloridnih, kalijevih i vodikovih.

Prednost neinvazivnih metoda je izostanak oštećenja kožne barijere pri ispitivanju i unaprijedene mogućnosti ranog opadanja subkliničkih znakova pojedinih oboljenja koje inače nije moguće opaziti vizualnim dermatološkim pregledom (78).

Potrebno je istaknuti nekoliko metoda koje se koriste za opsežnu, neinvazivnu procjenu znakova starenja kože. Jedna od metoda je snimanje kapaciteta kože, SkinChip. SkinChipom se dobiva uvid u teksturu površine kože kao i stupnju same hidratacije (79).

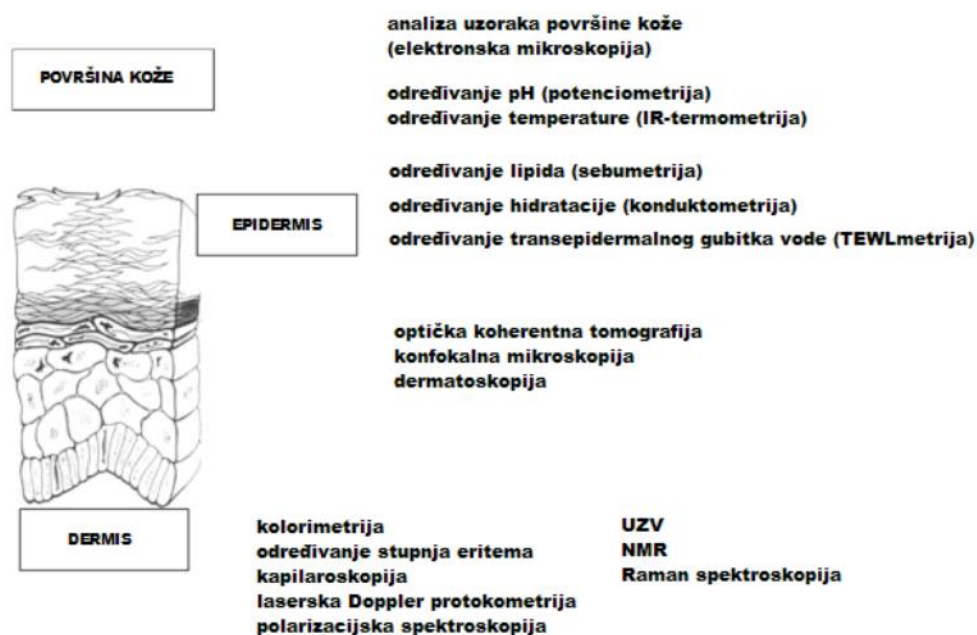
Evaporimetrija je zapravo mjerenje transepidermalnog gubitka vode dok je optička profilometrija namijenjena mjerenju dubine bora, odnosno hrapavosti kože (80).

Kolorimetrija koja je namijenjena za procjenu ujednačenosti pigmentacije, odnosno mjerenje parametara elastičnosti i to pomoću aparata kao što je Cutometer (81).

Konfokalna mikroskopija je također česte primjene. Među najznačajnijima ističe proces reflektirajuće konfokalne mikroskopije (RCM) za rano otkivanje procesa starenja kože, odnosno za praćenje terapije (82). RCM metoda je neinvazivna, koristi se konfokalni mikroskop za optički prikaz citoloških, strukturalnih komponenti (melanin, keratin, kolagen), s vrlo dobrim kontrastom u visokoj rezoluciji. Postupkom promatranja pod mikroskopom vidljivo je kako se keratinociti unutar epidermisa zrele kože formiraju u različite nepravilne oblike.

Ukoliko se promatra na razini dermisa, reflektirajućom konfokalnom metodom omogućuje se uvid u kolagenska, elastinska vlakna, odnosno vlakna koja se mogu pratiti kroz različite stupnjeve degeneracije tijekom vremena.

Izbor neinvazivne metode određivanja stanja i funkcije kože metode ovisi o dijelu kože koja je predmet ispitivanja.



Slika 6. Raspoložive metode određivanja stanja i funkcije kože; izbor metode ovisi o dijelu kože koji je predmet ispitivanja (prilagođeno prema (84)).

1.7. Sistemski pripravci ili nutriceutici

Uz topikalne kozmetičke proizvode koji su primarni za uklanjanje znakova starenja kože lica, nužno je istaknuti i primjenu pripravaka koji doprinose učinku kozmetičkog proizvoda. Djelovanje

im je na probavni i imunosni sustav, te smanjuju nastanak upalnih i degenerativnih procesa izravnom neutralizacijom slobodnih radikala. Učinak prvenstveno imaju antioksidansi, vitamini (53), elementi u tragovima probiotici, koenzim Q10, te omega-3-masne kiseline (84).

Sve je više novijih studija pokazalo kako i hormonska nadomjesna terapija (HNT) ima pozitivne učinke na strukturne komponente epidermisa i dermisa, atrofiranih tijekom perioda menopauze te postmenopauze. Sigurnost primjene HNT još uvijek nailazi na dileme opravdanosti uporabe u svrhu održavanja izgleda kože, zbog učestalih incidencija tromboembolije i hormonski ovisnog karcinoma dojke (85).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj specijalističkog rada je pregledno opisati i kritički raspraviti načela razvoja kozmetičkog proizvoda protiv starenja kože. Poseban naglasak bit će stavljen na aktivne tvari, te pripravke koji se koriste ili ispituju u svrhu prevencije i/ili usporavanja procesa starenja kože.

Specifičnosti regulatornih zahtjeva različitih regija/država, a što je ključno pri razvoju kozmetičkih proizvoda namijenjenog globalnom tržištu, također će se razložiti.

3. SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

Pretraživanje literature obavljeno je elektroničkim putem, a pretražena je baza podataka PubMed.

Pri proučavanju relevantnih članaka izdvojeni su najvažniji rezultati koji su prikazani ovim radom.

Pretraživane su i mrežne stranice kozmetičkih kompanija/korporacija. Regulatorni zahtjevi za stavljanje u promet kozmetičkih proizvoda različitih regija/država analizirani su korištenjem raspoloživih baza nadležnih regulatornih tijela. Važeći pravni dokumenti (UREDBA (EZ) br. 1223/2009 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima, Uredbe o izmjenama UREDBA (EZ) br. 1223/2009) na području Europske unije preuzeti su s internetskih stranica Narodnih novina i zakonodavstva Europske komisije.

4. RASPRAVA

4.1. KOZMECEUTICI U TOPIKALNOJ PRIMJENI PROTIV STARENJA KOŽE

Pojam „kozmeceutici“ prvi je uveo dr. Albert Kligman opisujući ih kao hibridnu kategoriju proizvoda koji se svojim djelovanjem nalaze između lijekova i kozmetike, pokazujući terapijsku učinkovitost (87).

Dijelimo ih u kategorije s obzirom na deklariranu aktivnu tvar (retinoidi, hidroksi kiseline, polifenoli itd.). Njihovom topikalnom primjenom poboljšava se tonus, tekstura i opći izgled kože, uz redukciju nastanka bora (88).

Najnoviji trendovi u razvoju kozmeceutika uključuju one koji se bave zaštitom kože od UV zračenja i nastalog oksidativnog stresa (89).

Kozmeceutici su postali najbrže rastući segment industrije za osobnu njegu.

U ovom poglavlju dan je pregled najčešće korištenih aktivnih tvari u borbi protiv starenja kože sa dokazanim kliničkim učincima u brojnim istraživanjima i prikazanim histološkim procjenama djelotvornosti.

4.2. Antioksidansi

Antioksidansi ostaju središte zanimanja farmaceutske i kozmetičke industrije 21.stoljeća. Topikalni antioksidansi su jedna od najpoželjnijih aktivnih tvari u kozmetičkim proizvodima protiv starenja kože (90).

Prema definiciji to su molekule koje uklanjaju nastale slobodne radikale i s njima stvaraju manje štetne molekule i/ ili prekidaju lančanu reakciju izazvanu slobodnim radikalima (91). Štite kožu od nastanka oksidativnog stresa uzrokovanog vanjskim, svakodnevnim podražajima, te unutarnjim procesom mitogeneze (nastanak slobodnih radikala uslijed fiziološkog staničnog metabolizma).

Najčešći antioksidansi u kozmetičkim proizvodima su alfa-lipoična kiselina (ALA), L-askorbinska kiselina (vitamin C), niacinamid (vitamin B3), alfa-tokoferol (vitamin E) i ubikinon (CoQ10) (90).

Međutim, ne postoji aktivna tvar sa potpuno zadovoljavajućim djelovanjem. To se može objasniti načinom na koji reaktivni kisikovi spojevi (ROS) djeluju na različite puteve u različitim situacijama, a antioksidans je fokusiran na jedan od tih puteva, često farmakokinetika ROS-a u ciljanom tkivu nije povezana s farmakokinetikom primjenjenog antioksidansa, te su ujedno i

biološka dostupnost i koncentracija antioksidansa u ciljanom tkivu i/ili organu ograničavajući faktor (92).

Kao što je već i navedeno antioksidansi su pokazali potentnost u zaštiti od fotostarenja kože. Fotokemijske reakcije koje se događaju u koži rezultat su izloženosti sunčevu UV zračenju i rezultiraju promjenama u staničnoj DNA, poput oksidacije nukleinskih kiselina. Povećanjem koncentracije nastalih reaktivnih spojeva intenzivira se oksidativni stres. Tako nastale molekule kemijski su vrlo reaktivne i kratkog vremenskog trajanja (91).

Postoje dva mehanizma prirodne obrane kože i njenih stanica od nastanka slobodnih reaktivnih spojeva. Opisani su kao enzimski i neenzimski proces neutralizacije slobodnih radikala (94). Kod enzimskog mehanizma uključeni su u neutralizaciju reaktivnih molekula esencijalni enzimi, poput glutation peroksidaze i reduktaze, katalaze, bakar-cink superoksid dismutaze i ekstracelularne superoksid dismutaze (95,96). Neenzimski mehanizam uključuje obranu od nastalih reaktivnih spojeva vlastitim antioksidansima. Kompleks antioksidansa sa slobodnim radikalima rezultat je normalnog staničnog disanja. Nastanak kompleksa dovodi do redukcije nastalih slobodnih radikala, smanjenja oštećenja stanične DNA, te do poboljšanja procesa njihove stanične eliminacije. Stoga se u svakodnevnoj njezi kože predlaže korištenje prvenstveno topikalnih antioksidansa jer je utvrđeno da oralni antioksidansi ne mogu cirkulacijom dospjeti do epidermisa i dermisa u koncentraciji koja bi bila učinkovita (97).

Da bi topikalno primijenjeni antioksidansi bili učinkoviti treba voditi računa o njihovoj kemijskoj nestabilnosti (lako mogu biti reducirani ili oksidirani), pri čemu mijenjaju boju na dnevnoj svjetlosti, te je izazovno formulirati estetski prihvatljiv proizvod (98). Također, moraju se pravilno apsorbirati u kožu, stići do ciljanog tkiva u aktivnom obliku i zadržati se ondje dovoljno dugo da ostvare željene učinke (98).

Topikalni antioksidansi danas se na tržištu predstavljaju kao sredstva za prevenciju starenja i oštećenja kože izazvanih UV zračenjem i za tretiranje bora i eritema uzrokovanih upalama (npr. poslije laserske obnove površinskog sloja kože).

Nadalje, ostaje kontradiktorna učestala topikalna primjena antioksidansa. Iako nema dovoljno kontroliranih kliničkih ispitivanja sa jasno dokazanom ulogom u sprečavanju ili usporavanju starenja kože, njihova uporaba je više nego masovna. Sadašnja istraživanja sugeriraju da

kombinacije različitih antioksidansa imaju sinergijske učinke i stoga, veću učinkovitost u usporedbi s primjenom samo jednog antioksidansa. Također, neki podaci sugeriraju da kombinacija oralnih i topikalnih proizvoda na bazi antioksidansa može imati kumulativne ili dodatne povoljne učinke na kožu i organizam u cjelini. Najvažnija je spoznaja o neškodljivosti primjene topikalno primjenjenih antioksidansa pa je to ujedno i jedan od razloga njihove sveprisutnosti u kozmetičkim proizvodima protiv starenja kože (100).

U ovom će se poglavlju raspravljati o najčešće korištenim antioksidansima dostupnih na tržištu kozmetike protiv starenja kože (99).

4.2.1. Vitamin A

Zlatni standard topikalnih kozmetičkih proizvoda protiv starenja kože su retinoidi, derivati vitamina A. Oblici vitamina A koje se najčešće koriste u kozmetičke svrhe su: retinol, esteri retinola (acetat, propionat, palmitat) i retinalaldehid. Djelovanjem endogenih enzima u organizmu svi oblici vitamina A prelaze u trans-retinoičnu kiselinu kao aktivni oblik vitamina A (101).

Vidljivi su i dokazani brojnim studijama pozitivni efekti njihove primjene na kožu u području epidermisa i dermisa. Svrstavaju se u najkorištenije aktivne tvari za primjenu u kozmetičkim proizvodima (102).

No, retinoidi mogu biti i snažni iritansi, izrazito nestabilni u prisutnosti kisika i svjetla, te je njihova primjena kao antioksidansa u pripravcima za UV zaštitu često neopravdana (102).

Retinoična kiselina ili tretinoin, nearomatski retinoid prve generacije, smatra se jednim od najkorisnijih komponenti za uklanjanje znakova starenja kože, poput bora i hiperpigmentacijskih mrlja. Odobren za primjenu je u koncentraciji od 0,05% ali zbog neželjenog učinka izazivanja snažnih iritacija, mora se primjenjivati s oprezom.

Retinol ili vitamin A je biološki aktivni oblik vitamina A za kojeg su in vivo studije pokazale da, kada je topikalno primijenjen, ima samo srednju biološku aktivnost u usporedbi s topikalnim retinaldehidom i retinoičnom kiselinom. S druge strane, randomizirane i kontrolirane studije su pokazale značajno poboljšanje u izgledu tankih bora tijekom 12 i 24 tjedana primjene. Stoga se najčešće koristi u kozmetičkim proizvodima protiv starenja, te ne izaziva učestale iritacije kože (102).

Retinaldehid, je intermedijerni oblik konverzije retinola u retinoičnu kiselinu. Studijama je dokazana značajna korekcija i dubljih bora redovitom uporabom do šest mjeseci (105).

Esteri retinola, poput retinol i retinil propionata, retinil palmitata, manje se koriste u kozmetičkim proizvodima iako su studije pokazale učinkovitosti.

U dvostruko slijepom, placebo kontroliranom ispitivanju na licu, retinol i retinil propionat su bili izrazito učinkoviti u redukciji dubine bora i stupnja hiperpigmentacije. Klinički je ispitan i retinil palmitat koji ima slabiju učinkovitost i u vrlo visokim koncentracijama od 2% (106). No, u gotovo svim studijama esteri retinola su pokazali veću podnošljivost na koži i u usporedbi sa retinolom.

Mehanizam djelovanja trans-retinoične kiseline bazira se na dostupnim *in vitro* eksperimentima. U epidermisu reducira keratinocitnu atipiju i normalizira rasprostranjenost melanosoma, dok u slojevima kolagenskog i elastičnog dermisa dovodi do povećanja biosinteze kolagena, te povećanja količine elastina (107).

Dobijene su i spoznaje o reaktivaciji mikrofibrila bogatih fibrilinom u blizini epidermokutane veze, time se ponovno uspostavlja oslabljena fizička veza između površinskih slojeva kože i zrelih elastičnih vlakana u dubljem dermisu. Interakcija trans-retinoične kiseline s proteinima nuklearnih receptora dovodi do interakcije sa specifičnim sekvencama DNA. Time utječe na transkripciju što rezultira povećanjem ili smanjenjem ekspresije određenih proteina/enzima. Među brojnim promjenama ekspresije gena koje uzrokuju retinoidi, samo neke od njih imaju značajan učinak na sprječavanje starenja kože. Takve promjene su već opisane u epidermisu kao povećanje epidermalne proliferacije i diferencijacije (povećanje epidermalne debljine), povećanje produkcije epidermalnih tvari (glikozaminoglikana koji vežu vodu i tako povećavaju debljinu i hidrataciju epidermisa), povećanje produkcije komponenti izvanstraničnog dermalnog matriksa kao što je kolagen (povećanje debljine dermisa) (107).

Uslijed takvih promjena dolazi do smanjenja finih linija i bora (108).

Osim stimulacijskih učinaka, retinoidi također imaju i inhibitorne učinke. Reduciraju produkciju kolagenaza, inhibiraju proizvodnju viška tvari koje uzrokuju fotostarenje kože. Retinoidi također smanjuju ekspresiju tirozinaze, ključnog enzima u pretvorbi tirozina u melanin. Topikalno primijenjeni retinoidi (npr. trans-retinoična kiselina) pokazuju brz, vidljiv učinak na epidermis, stoga se i smanjenje finih linija očekuje već nakon par dana od primjene proizvoda. Učinci na

dermis javljaju se tek za nekoliko tjedana pa čak i mjeseci, te se i smanjenje dubokih bora očekuje u tom periodu. Većina istraživanja se temelji na učinkovitosti topikalne primjene retinoične kiseline u smanjenju bora. Međutim, istraženi su i drugi oblici vitamina A poput retinola i retinil-palmitata. Općenito, retinoidi su vrlo potentne tvari, pa je za topikalnu primjenu doza manja od 1% dovoljna da bi se ostvarili značajni učinci. Niske doze korištenog retinola i retinil-palmitata u kliničkom ispitivanju u trajanju od 12 tjedana dale su značajne rezultate na smanjenje facijalnih bora i hiperpigmentacije.

Korištenje retinoida izaziva često iritacije kože uz nestabilnost kemijske formulacije uz prisutnost kisika i svjetlosti (108). Koža bolje podnosi retinol od trans-retinoične kiseline, retinalaldehid (105) uzrokuje iritaciju slično kao i retinol, dok se esteri retinola podnose bolje od samog retinola. Iritacija može biti ublažena i oblicima koji kontroliraju isporuku ili uključivanjem drugih sastojaka u oblikovanje, kao što su protuupalna sredstva.

Alitretinoin (9-cis-retinoična kiselina) je prirodan endogeni retinoid (111,112). Posjeduje sposobnost vezanja i aktiviranja intracelularnih receptora retinoične kiseline, pokazuje obnavljajuće mehanizme u oštećenoj koži (111). U kliničkom ispitivanju malih razmjera pokazano je da su topikalno primijenjen gel sa 0,1%-tnim alitretinoinom pacijenti dobro podnijeli i pokazano je poboljšanje benignih kožnih lezija (seboreična keratoza) i prekancerogenih lezija (aktinična keratoza). Međutim za potvrdu takvih učinaka potrebno je provesti puno opsežnija istraživanja.

4.2.2. Vitamin B3

Vitamin B3 je esencijalni vitamin. Osnovni oblici vitamina B3 koji se koriste u kozmetičkim proizvodima su niacinamid (nikotinamid), nikotinska kiselina i esteri nikotina (113).

Prekursor je endogenih enzimskih kofaktora, nikotinamid-adenin-dinukleotida (NAD), njegovog fosforiliranog derivata NAD(P), te njihovih reduciranih formi NAD(H) i NAD(PH), koji imaju svojstva antioksidansa (114).

Niacinamid (vitamin B3) je snažan i lako podnošljiv antioksidans koji svojim učinkom ostvaruje poboljšanje u lipidnoj sredini epidermalne barijere smanjujući time gubitak vode preko epidermisa te na taj način poboljšava elastičnost kože. Djeluje i kao inhibitor prijenosa melanosoma, smanjujući nastale hiperpigmentacije (115).

Ovi kofaktori sudjeluju u mnogim enzimskim reakcijama i tako utječu na procese u koži. Upravo takva raznolikost procesa u kojima sudjeluju odgovorna je za učinke lokalno primijenjenih proizvoda (115).

Međutim, treba imati u vidu da se neki mehanizmi niacinamida temelje isključivo na *in vitro* istraživanjima, pa tako njihov učinak nije u potpunosti razjašnjen. Nikotinska kiselina i njeni esteri također su prekursori NAD(P) stoga pokazuju slične učinke na kožu. Za ostvarivanje punog potencijala korištene su visoke doze vitamina B3 od 2 do 5% (115). Tako visoke doze se mogu koristiti zahvaljujući visokoj toleranciji kože na niacinamid i kod dugotrajne primjene. Najveći izazov u radu s niacinamidom i esterima nikotinske kiseline je sprječavanje hidrolize do nikotinske kiseline. Nikotinska kiselina i u malim dozama može izazvati intenzivno crvenilo kože. Da bi se izbjegla hidroliza aktivne tvari preporuča se da pH kozmetičkog proizvoda bude u rasponu od 4 do 9. *In vitro* se pokazala antikancerogena aktivnost na keratinocitima i supresija UV-B fotokarcinogeneze. U novije vrijeme koristi se za liječenje dermatoza (151).

Topikalno primijenjen niacinamid smanjuje produkciju sebuma, te povećava produkciju ceramida, lipida stanične membrane i lipidne barijere. Pokazuje protuupalno djelovanje, te povećava produkciju kolagena. Blago reducira već nastale hiperpigmentacije (116). Može zamijeniti retinol kao nježnija i učinkovita alternativa, posebice kod ljudi sa osjetljivom kožom (152).

Učinci koji se javljaju nakon duže primjene su poboljšanje kožne barijere, te smanjenje osjetljivosti kože na razne tvari iz okoliša.

4.2.3. N-acetil-glukozamin (NAG)

NAG je stabilniji oblik glukozamina te se smatra prekursorom biosinteze hijaluronske kiseline. Koristi se u kozmetičkim proizvodima kao hidratantno sredstvo i antioksidans koji može spriječiti pojavu novih znakova fotooštećenja kože (117). Placebom kontrolirana studija u kojoj je uspoređena primjena NAG-a u koncentraciji od 3,5 % s primjenom kombinacije NAG-a i niacinamida u koncentracijama od 3,5 % na hiperpigmentacijskim mrljama pokazala je poboljšano smanjenje pigmentacije kod grupe koja je upotrebljavala kombiniranu terapiju u odnosu na grupu koja je upotrebljavala placebo, ali i grupu koja je upotrebljavala samo NAG. Stoga su danas vrlo često zastupljeni u istoj formulaciji kao dvije aktivne tvari sinergijskog djelovanja (118).

4.2.4. Vitamin C

Vitamin C otkriven je 1930.g. kao neophodna za život (119). Snažan je antioksidans kojeg nalazimo u najvećoj količini u koži. Vitamin C je L-enantiomer askorbinske kiseline, te je biološki najaktivniji oblik (119).

Esencijaln je u hidroksilaciji prokolagena, uvjetujući sintezu kolagena, prolina i lizina. Najmanja izlaganja kože UV zračenju smanjuju količinu vitamina C u koži za 30-ak posto, dok u područjima ozonskih rupa taj manjak iznosi i do 55%. Koncentracija Vitamina C u koži opada sa duljinom izloženosti UV zračenju. Problem topikalne primjene vitamina C proizlazi iz činjenice nestabilnosti aktivne molekule koja reagira s kisikom iz zraka i tako se troši (120,121).

Postoje klinički podaci koji podupiru topikalnu primjenu vitamina C za ublažavanje plitkih bora i smanjivanje hiperpigmentacije i upala, dok su formulacije koje uključuju ovaj antioksidans brojne na tržištu. Međutim, mnoge od tih formulacija nisu dovoljno učinkovite na koži zbog premale koncentracije L-askorbinske kiseline. Izlaganje proizvoda zraku i svjetlosti narušava njegovu stabilnost, koža ne može učinkovito apsorbirati ni metabolizirati molekulu L-askorbinske kiseline (u obliku estera ili mješavine izomera) (122).

Stoga, ako se primijeni u dovoljno visokim koncentracijama (najmanje 10 %) u optimalnom obliku izomera koji nije esterificiran, ovaj antioksidans dokazano sprječava nastala oštećenja uslijed UV zračenja. Važno je napomenuti da stabilizacija askorbinske kiseline predstavlja niz izazova u razvoju formulacija; međutim, formulacije s pH vrijednošću u kiselom području od 3,5 mogu optimizirati apsorpciju vitamina C (122).

Najčešće korišteni oblici vitamina C u kozmetičkim proizvodima su askorbinska kiselina, askorбил fosfat, askorбил palmitat i askorбил glukozid. Zbog svog antioksidativnog djelovanja i inhibicije tirozinaze, vitamin C je često korišten kao tvar za posvjetljivanje (osvježenje) boje kože. Zbog toga što smanjuje pojavu eritema nakon primjene lasera, poznat je i kao protuupalno sredstvo.

Askorbinska kiselina je i bitan kofaktor za lizil- i prolil-hidroksilaze, enzime koji su potrebni u procesima posttranslacije biosinteze kolagena. Sudjelovanjem u ovim biosintetskim koracima, askorbinska kiselina ima veliki značaj u proizvodnji kolagena, kojim se posljedično smanjuju bore (123).

U nekoliko kozmetičkih ispitivanja, dokazano je da spojevi askorbata imaju učinak na starenje kože. U ispitivanjima su korištene doze vitamina C u rasponu od 3% do 17%. Istraživanje je pokazalo da topikalna primjena 3% askorbinske kiseline kroz 1 tjedan na ljudskoj koži značajno smanjuje oksidaciju stanica uzrokovanu UVA zračenjem, dok je smanjenje oksidacije s 3% natrij askorbil fosfatom bilo znatno manje. Kliničko ispitivanje provedeno kroz 12 tjedana, pokazalo je da koža dobro podnosi dozu od 3% askorbinske kiseline i da se smanjuju bore na licu (124).

Druga istraživanja su pokazala, da primjena visokih doza askorbinske kiseline (5-17%) u periodu od 12 tjedana do 6 mjeseci smanjuje fotostarenje kože, poboljšava teksturu kože te povećava količinu kolagena i elastina u koži.

Glavni problem u radu s vitaminom C i njegovim derivatima je njihova nestabilnost tj. osjetljivost na kisik. Na ovaj problem nastojalo se odgovoriti pokušajima stabilizacije kao što je potpuna odsutnost kisika tijekom oblikovanja, ambalažom koja ne propušta kisik, niskim pH, minimalizacijom vodene faze pripravka, te uključivanjem drugih antioksidansa. Bez obzira na takve strategije, stabilnost vitamina C i dalje predstavlja probleme u oblikovanju proizvoda, a neki pokušaji, kao što je niski pH, čak mogu dovesti do neželjenih estetskih učinaka (iritacija, crvenilo kože)(125).

Askorbil glukozid ima dokazanu stabilnost u proizvodu, međutim značajno je skuplji od askorbinske kiseline. Problem predstavlja i isporuka vitamina C u kožu. Penetracija askorbinske kiseline je slaba. Manje od 1% topikalno primjenjene doze penetrira u kožu pa je iz tog razloga nužan pristup i u poboljšanju penetracije vitamina C (125).

Kompleks vitamina C koji sadrži 10% askorbinske kiseline (topljiva u vodi) i 7% tetraheksildecil askorbata (topljiv u lipidima) u navedenom polisilikonskom gelu testiran je na polovici lica, dok je na drugoj polovici korišten neaktivni polisilikonski gel. Učinci su procijenjeni klinički i histološki. Uočeno je statistički značajno smanjenje fotostarenja na obrazima i perioralnom području na strani lica koja je tretirana kompleksom vitamina C. Kod nijednog pacijenta nije zabilježena iritacija ili upala kože tijekom primjene takvog kompleksa kroz 12 tjedana (126).

L-askorbinska kiselina (vitamin C) se već dugo primjenjuje u topikalnim pripravcima, prvenstveno zbog antioksidativnog učinka i stimulirajućeg efekta na sintezu kolagena. Također, inhibira enzim tirozinazu smanjujući hiperpigmentacije. Pokazalo se da izlaganje minimalnoj eritemskoj dozi

(MED) UV-zračenja koja iznosi 1,6 smanjuje razinu L-askorbinske kiseline na 66% od uobičajene razine, stoga je visoka koncentracija askorbinske kiseline (15%) bitna za optimalne rezultate. Neke studije su pokazale da se esterifikacijom hidroksilne grupe rješava problem nestabilnosti unutar formulacije. Intenzivno se istražuju nove formulacije za stabiliziranje vitamina C npr. mikrokapsuliranje, suspenzije, mikroemulzija, ili jednokratna primjena u ampulama (129).

Topikalna primjena vitamina C kao fotoprotektanta proučena je *in vitro* i *in vivo* te je pokazano da sprečava oštećenja od sunca tako što smanjuje broj oštećenih stanica, ali i crvenilo, kod izlaganja UVA i UVB zračenju. Dokazano je da pripravci za zaštitu od sunca s faktorima zaštite od UVA ili UVB zračenja u koja je dodan vitamin C pružaju bolju zaštitu u usporedbi s primjenom pripravaka za zaštitu od sunca bez dodanog vitamina C.

Danas se vitamin C u proizvodima koristiti kao prekursor, odnosno stabilizirani oblik. Jedan od takvih oblika je askorbil fosfat (INCI: Sodium Ascorbyl Phosphate).

Askorbil fosfat je neaktivan, no ulaskom u tkivo kože enzimi fosfataze odcjepljuju fosfatnu skupinu i oslobađaju vitamin C. Na taj način se produljuje aktivnost u koži jer je reakcija odcjepljivanja postupna. Askorbil fosfat je topljiv u vodenj fazi kreme, u koncentraciji do 2% koristi se kao antioksidans, a do 5% protiv nastalih hiperpigmentacija kože (128).

4.2.5. Vitamin E

Vitamin E najvažniji je lipofilni antioksidans krvne plazme, staničnih membrana i tkiva (130). Štiti staničnu membranu od razaranja jer pri procesu lipidne peroksidacije, neutralizira nastale reaktivne lipid-peroxyl radikale, time produžuje vijek stanica i odlaže stanično starenje (131). Kad je topikalno primijenjen prije izloženosti UV zrakama smanjuje nastanak eritema.

U kozmetičke svrhe, oblici vitamina E koji se uglavnom koriste su tokoferol, tokoferil acetat, te nekoliko estera npr. sukcinat, nikotinat, fosfat. Prirodni tokoferol ima nekoliko izomera (alfa, beta, gama i delta) koji se razlikuju u nekoliko bočnih lanaca, te time imaju i različite potencijalne učinke. U kozmetičkoj industriji koristi se sintetski proizveden alfa-tokoferol. Vitamin E sprječava i/ili umanjuje nastale kožne probleme, akutne i kronične, uzrokovane slobodnim kisikovim radikalima (132).

Topikalno primijenjena doza od 2% vitamina E učinkovita je u uklanjanju crvenila izazvanog UV-zračenjem. Istraživanje provedeno kroz 4 mjeseca s 5% topikalno primijenjenog vitamina E

pokazalo je učinkovitost na bore u području oko očiju. Sukladno tome, zaključeno je da visoke doze vitamina E imaju značajne i vidljive učinke na kožu (133).

S obzirom da su tokoferol i tokoferil acetat topljivi u lipidima, glavni izazov u oblikovanju prikladnih kozmetičkog proizvoda je nemasna formulacija prihvatljiva većini potrošača.

Slično vitaminu C, minimalna doza UV zračenja smanjuje razinu alfa-tokoferola na 75% od normalne razine u koži, stoga je potrebna viša koncentracija (2 do 5%) za optimalne rezultate u fotozaštiti kože (134).

Postoji osam aktivnih izoformi, koje dijelimo na tokoferole i tokotrienole. Od četiri tokoferola (alfa-, beta-, gama- i delta-), najaktivniji je alfa-tokoferol (AT). Nanošenje kreme s tokoferolom u koncentracijama od 5 % do 8 % na kožu lica poboljšalo je znakove fotostarenja u usporedbi s placebom.

Esterificirani derivati acetat i sukcinat, iako prisutni u kozmetičkim proizvodima, ne metaboliziraju se u aktivni alfa-tokoferol, te od ukupno 32 izomera vitamina E samo je d- α -tokoferol topikalno učinkovit. Iako primijenjen samostalno ima antioksidacijske učinke, pokazalo se da 1%-tni α -tokoferol u kombinaciji s 15%-tnom askorbinskom kiselinom ostvaruje četiri puta veću zaštitu od UV zračenjem induciranih eritema (135,136)

Topikalna primjena vitamina E kroz dulji vremenski period može izazvati pojavu kontaktnog dermatitisa kod ljudi s osjetljivom kožom (137).

4.2.6. Pantenol

Pantenol je alkoholni analog vitamina B5 . Biološki je aktivan i stabilan pri topikalnoj primjeni. U koži se formira u pantotensku kiselinu. Deksapantenol je D izomer pantenola i predstavlja prekursor pantotenske kiseline (vitamin B5).

S obzirom da je pantenol prekursor pantotenske kiseline, njegovi učinci na kožu proizlaze upravo iz te uloge (138).

Pantotenska kiselina, sastojak koenzima A, djeluje kao kofaktor u raznim enzimski kataliziranim reakcijama koje su važne u metabolizmu ugljikohidrata, masnih kiselina, proteina, sterola, steroidnih hormona i porfirina.

Povećanjem sinteze lipida rožnatog sloja poboljšava se njegova zaštitna uloga epidermisa. Također potiče i proliferaciju fibroblasta i epidermalnu reepitelizaciju u *in vitro* uvjetima koji pomažu u zacjeljivanju rana.

S obzirom da je topljiv u vodi i higroskopian posjeduje veliki potencijal hidratacije kože, pogotovo u kombinaciji s glicerolom. S obzirom da koža dobro podnosi pantenol i da topikalna primjena ne izaziva nikakve iritacije kože (crvenilo, suhoća, svrbež) često se koristi u kozmetičkim proizvodima (139).

Topikalno primijenjen dobro se apsorbira u dublje slojeve epiderme, pokazuje hidratacijska svojstva vežući i pohranjujući vodu (140). Poboljšana je hidratacija rožnatog sloja, smanjen je transepidermalni gubitak vode, te je sačuvana mekoća i turgor kože.

Pri formulaciji proizvoda s pantenolom visoke temperature mogu dovesti do konverzije D-pantenola u L-pantenol čime se gubi njegova djelotvornost. Ako se koriste veće koncentracije pantenola gotov kozmetički proizvod pokazuje tzv. ljepljivost koja nije dobro prihvaćena pri svakodnevnoj uporabi. Stoga se preporuča udio u kozmetičkim proizvodima od 2% do 5%.

4.2.7. Lipoična kiselina

Alfa lipoična kiselina (ALA) jedinstveni je antioksidans zbog sposobnosti penetracije u sve stanice i tkiva. Time se dokazuje kao univerzalni zaštitnik stanica od slobodnih radikala. Također, čuvar je vitamina C, E i glutaciona štiteći ih od oksidativnih procesa (141).

Topikalna primjena kreme s 5% lipoične kiseline procjenjivana je kliničkim ispitivanjima na uzorku od 33 žene. Korištenje kreme dva puta dnevno kroz 12 tjedana uočena je značajno smanjena hrapavost kože i smanjen nastanak finih bora za 10% (142)

Alfa-lipoična kiselina (ALA) posjeduje protuupalno djelovanje i odstranjuje odumrle stanice sa površine kože, ali ne pruža UV zaštitu stanica (143).

Na kozmetičkom tržištu su popularne kombinacije antioksidansa među kojima su najznačajnija kombinacija α -lipoične kiseline, ibedenon kinetin i niacinamid.

4.2.8. Ubikinon (koenzim Q10)

Ubikinon (CoQ10) prisutan je u gotovo svim živim stanicama (izuzev kod nekih bakterija i gljiva) kao komponenta respiracijskog ciklusa.

Sudjeluje u ciklusu stvaranja staničnog, mitohondrijskog ATP, tzv. kemijske energije. CoQ10 sudjeluje u procesima koji osiguravaju do 95 % energetske potrebe organizma.

Stimulira energetske funkcije stanica kože koja ga sama proizvodi, a s godinama koncentracija Q10 rapidno opada.

Dokazano je u studijama da koenzim Q10 može značajno smanjiti nastajanje slobodnih radikala koji nastaju unutar stanice starijih osoba. Istraživanja su pokazala da primjena koenzima Q10 u kozmetičkim preparatima u obliku kremastih emulzija značajno smanjuje dubinu kožnih bora. Q10 smanjuje staničnu peroksidaciju nisko molekulskih lipoproteina, bolje od vitamina E (144).

Koenzim Q10 uključen je u zaštitu kože pri izlaganju sunčevom zračenju (koncentracija koenzima Q10 u koži izloženoj suncu je značajno veća nego koži neizloženih dijelova tijela). Neke studije su dokazale da je koenzim Q10 jedan od prvih antioksidansa u koži koji se razgrađuje i uništava pod djelovanjem sunčeve svjetlosti. Uočeno je da je koncentracija koenzima Q10 znatno veća u površinskim nego u dubljim slojevima kože. Što ukazuje na činjenicu da su antioksidansi uključeni prvenstveno u zaštitu površinskih slojeva kože (145).

Topikalno primijenjen ubikinon može prodrijeti kroz žive slojeve epidermisa i smanjiti dubinu bora. Također je djelotvoran protiv UVA posredovanog oksidativnog stresa keratinocita, te može značajno smanjiti ekspresiju kolagenaze u dermalnim fibroblastima nakon UV-zračenja. Također, može smanjiti gubitak hijaluronske kiseline, povećavajući razinu glikozaminoglikana (146).

Malo je studija o učinku topikalne primjene ovog koenzima na ljudskoj koži. Bez obzira na to, CoQ10 je popularan topikalni antioksidans koji nalazimo u kozmetičkim proizvodima. Uporaba kreme s 0,3% ubikinona jednom dnevno kroz 6 mjeseci rezultirala je smanjenjem dubine bora za 27%. Nisu zabilježene nikakve nuspojave kod topikalne primjene koenzima Q10 (147).

4.2.9. Idebenon

Idebenon je sintetski analog koenzima Q10. Pokazano je da je djelotvorniji od koenzima Q10 i drugih poznatih antioksidansa. Studija topikalnog pripravka za njegu kože s idebenonom na ljudima pokazala je pozitivne učinke na fotooštećenoj koži (tj. smanjenje hrapavosti/suhoće kože, smanjenje finih linija/bora). Učestala primjena kreme s 0,5 % idebenona može dovesti do neželjene reakcije osjetljivosti koja se manifestira u formi kontaktnog dermatitisa (148).

4.2.10. Likopen

Karotenoidi, uključujući beta-karoten, lutein, likopen i astaksantin, posjeduju snažan antioksidacijski učinak. Zaslužne za boju narančastog, žutog i crvenog voća i povrća. U prirodi nalazimo oko 600 poznatih karotenoida od kojih se antioksidativnom aktivnošću ističe njih sedam: alfa-karoten, beta- karoten, likopen, lutein, beta-kriptoksantin, astaksantin i zeaksantin.

Likopen je vrlo potentan antioksidans, karotenoid koji nalazimo u crvenom voću i povrću. Upravo je likopen zaslužan za njihovu crvenu boju. Njegovo preventivno djelovanje na foto inducirane tumore dokazano je na modelima miševa. Bez obzira na to što je dostupno vrlo malo kliničkih podataka, likopen se koristi kao sastojak raznim proizvoda za njegu kože (149,150).

Jedan od najčešće korištenih dodataka u svrhu pripreme kože za sunce je beta-karoten. Kako bi se polučilo zaštitno djelovanje potrebno je oralno uzimati beta karoten najmanje 10 tjedana. I ostali karotenoidi pomažu koži u bržoj adaptaciji na izloženost UV zračenju pri čemu je najpotentniji karotenoid astaksantin.

4.2.11. Kinetin

Kinetin ili N6-furfuriladenin je biljni čimbenik rasta koji ima značajna antioksidativna svojstva. U prisutnosti kalcija može promovirati diferencijaciju ljudskih keratinocita. Također može inhibirati i oksidativno i glikooksidativno oštećenje proteina u *in vitro* uvjetima i oksidativno oštećenje DNA posredovano Fentonovom reakcijom. Dodatak kinetina u kulturu fibroblasta odgađa karakteristične promjene uzrokovane starenjem. Inicijalna ispitivanja pokazuju da korištenjem losiona s kinetinom dva puta dnevno kroz 24 tjedna može se smanjiti hrapavost kože, hiperpigmentacija i fine bore na licu (153).

Kozmetički proizvodi razvijeni i prije nekoliko godina stavljeni na tržište sadrže N(6)-F-furfuriladenin. Međutim i ovdje su potrebna daljnja klinička ispitivanja kako bi se potvrdila njegova učinkovitost i sigurnost topikalne primjene (154, 155).

4.2.12. Dimetilaminoetanol

Dimetilaminoetanol (DMAE) je analog kolina i prekursor acetilkolina koji je primjenjiv i oralno i topikalno (156).

U randomiziranim, kliničkim ispitivanjima, pokazano je da 3%-tni DMAE gel za lice korišten jednom dnevno kroz 16 tjedana je siguran i učinkovit u smanjenju bora na čelu i periorbitalnih

bora, te poboljšanju cjelokupnog izgleda ostarjele kože. DMAE u topikalnim pripravcima koristi se zbog sposobnosti poboljšanja kontura lica pri djelovanju na neurotransmitere odgovorne za mišićnu stimulaciju (157).

Dugotrajna upotreba (godina dana) DMAE gela povezana je sa dobrim sigurnosnim profilom, bez pojave neželjenih reakcija (158).

4.2.13. Melatonin

Melatonin je hormon kojeg proizvodi epifiza, sintetizira se po noći iz aminokiseline triptofana. Epifiza je tijekom dana neaktivna, a zalaskom sunca i pojavom mraka, počinje aktivno proizvoditi melatonin koji se otpušta u krv. Posljedica povećanja razine melatonina je pospanost i san. Razina melatonina ostaje povišene tijekom cijele noći, otprilike 12 sati i sa zrakama sunca polako se snižavaju, signalizirajući vrijeme za buđenje (159). Produkcija i koncentracija u krvi opada mu s godinama starosti (160). Koža je, zahvaljujući zagađenju i UV zračenju, tijekom cijelog dana izložena slobodnim radikalima. Kako bi ih neutraliziralo, naše tijelo proizvodi antioksidanse uz pomoć posebnih enzima (161). Melatonin pospješuje proizvodnju enzima, a nedavni rezultati studija ukazuju da je antioksidativno djelovanje melatonina jače od vitamina C i E. Djelotvoran je antioksidans, brzog prolaza kroz staničnu membranu. Ubrzava cijeljenje površinski rana, štiti od UV zračenja (162). Melatonin se može koristiti u kombinaciji s drugim anti-age sastojcima poput retinola ili vitamina C, a dobro se nadopunjuje i s hijaluronskom kiselinom. Prihvaćen stav je da se nanosi noću, ali neki dermatolozi tvrde da zbog njegove sposobnosti pojačane proizvodnje staničnih antioksidanasa, melatonin treba koristiti i danju jer smo upravo tada izloženi negativnom djelovanju slobodnih radikala. Melatonin je još uvijek nova aktivan tvar za primjenu u kozmetičkoj industriji, te sva antioksidativna djelovanja na kožu nisu potvrđena (163). Ako se koristiti kao aktivna tvar u kozmetičkom proizvodu obavezna je upotreba kreme sa zaštitnim faktorom 30 ili više (164).

4.3. Biljne tvari i pripravci

Najzastupljenije biljne aktivne tvari u kozmetičkim proizvodima protiv starenja kože su ekstrakt zelenog čaja, ferulična kiselina i ekstrakt sjemenki grožđa. Njihova popularnost i upotreba je gotovo nekontrolirana, pogotovo zbog nedostatka znanstveno utemeljenih tvrdnji o pozitivnim učincima.

Flavonoidi su polifenoli prisutni u biljkama s izrazitim antioksidativnim učinkom, te pružaju zaštitu od UV zračenja. Njihova podskupina su izoflavonoidi u koje se ubrajaju genistein, izoliran iz soje, te katehini iz ekstrakta sjemenki grožđa (165).

4.3.1. Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenog čaja je primjer katehin baziranog polifenolskog flavonoida. Polifenoli zelenog čaja imaju antioksidativna i protuupalna svojstva. Zeleni čaj se dobiva iz biljke *Camellia sinensis*. Od četiri glavna katehinska polifenola, epigalokatehin-3-galat (EGCG) je najobilniji i biološki najaktivniji. Epigalokatehin 3-galat koji stimulira proliferaciju keratinocita, povećava debljinu epidermisa i pokazuje inhibiciju formiranja kancerogenih stanica.

Iako je na miševima pokazano kako zeleni čaj štiti od karcinogeneze izazvane UV zračenjem, postoji mali broj ispitivanja koja proučavaju njegovo djelovanje na ljudskoj koži (166).

U kliničkom istraživanju na uzorku od 40 žena s umjerenom izraženosti fotostarenja, kombinacijom korištenja kreme s 10% ekstrakta zelenog čaja i uzimanjem dva puta dnevno oralne suplementacije zelenog čaja (300 mg) kroz 8 tjedana rezultiralo je poboljšanjem u sastavu elastičnog tkiva u odnosu na placebo, iako nikakve kliničke promjene nisu uočene. Potrebna su daljnja istraživanja prije nego se utvrdi da zeleni čaj djeluje kao inhibitor fotooštećenja na ljudskoj koži (167).

Polifenoli zelenog čaja inhibiraju aktivnost kolagenaze i povećavaju biosintezu kolagena u ljudskim fibroblastima. Također mogu inhibirati i aktivnost tirozinaze. Polifenoli zelenog čaja ili zeleni čaj mogu zaštititi DNA od UV induciranog oštećenja u raznim tipovima stanica, uključujući fibroblaste i keratinocyte kože (168). Polifenoli zelenog čaja su nestabilne molekule jer podliježu oksidaciji. Oblikovanje polifenola zelenog čaja kao aktivnih topikalnih tvari u kozmetičkim formulacijama uvijek predstavlja izazov za proizvođača.

Zahvaljujući brojnim *in vitro* i *in vivo* studijama, ekstrakt zelenog čaja je vjerojatno najproučavaniji antioksidans. *In vivo* istraživanja pokazuju da topikalna primjena ekstrakta zelenog čaja suprimira kemo i fotokancerogenezu u miševa i sprječava UV inducirana oksidativna oštećenja, te indukciju matriksnih metaloproteinaza (169). Kao i kod većine antioksidansa, ne postoje kontrolirana klinička ispitivanja, dok koncentracija fenola u različitim proizvodima nije standardizirana.

4.3.2. Sojini izoflavoni

Genistein, izoflavon izoliran iz soje je vrlo često u primjeni kao aktivna tvar zbog svojih antioksidativnih karakteristika (170). Može inhibirati oksidativna stanična oštećenja DNA izazvana UV zračenjem. Pokazano je da genistein, kada se topikalno primjenjuje ili uzima oralnim putem kao suplement, učinkovito štiti ljudsku kožu od fotooštećenja kože izazvanih UVB zračenjem. Koristi se kao sastojak u različitim proizvodima poput hidratantnih pripravaka za lice i u drugim formulacijama za njegu kože, za koje se tvrdi da djeluju protiv starenja kože (171). Međutim i ovdje su potrebna daljnja klinička ispitivanja o djelotvornosti topikalno primijenjenog genisteina.

4.3.3. Sjemenke grožđa

Sjemenke grožđa dobivaju se iz biljke *Vitis vinifera* i bogate su proantocijanidinima (GSP) iz skupine flavonoida. Proantocijanidini su potentni antioksidansi koji djeluju kao snažni neutralizator slobodnih radikala (172). Pokazalo se da je ekstrakt sjemenki grožđa bolji hvatač slobodnih radikala od vitamina C i E, zbog mehanizam antioksidativnog djelovanja s učinkom fotozaštite. Pokazano je da GSP inhibira iscrpljivanje komponenti antioksidativne zaštite izazvano UVB zračenjem. Topikalna primjena ekstrakta sjemenki grožđa pojačava zaštitni faktor u proizvodima za zaštitu od sunca. Danas su globalno poznate kozmetičke marke u čijoj osnovi su ekstrakti sjemenaka grožđa kao primarna aktivna tvar (173).

4.3.4. Nar

Ekstrakti nara dobivaju se iz različitih dijelova ploda biljke *Punica granatum*, poput soka, sjemenki i kore. Fenolne komponente karakterizira posebno snažna antioksidativna aktivnost. Pokazano je da topikalna primjena ekstrakta kore nara obnavlja aktivnosti enzima katalaze, peroksidaze i superoksid-dismutaze *in vivo*. Pokazano je da ekstrakt ploda ublažava oštećenja posredovana UVA zračenjem i štiti od štetnih učinaka UVB zračenja *in vitro*. Ekstrakt nara može se naći u različitim proizvodima za njegu kože (174).

4.3.5. CoffeeBerry®

CoffeeBerry® (VDF FutureCeuticals) je zaštićeno ime antioksidansa koji se dobiva iz ploda biljke *Coffea arabica* (175). Dokazano je kao antioksidans snažniji od zelenog čaja, ekstrakta nara, vitamina C i vitamina E. Sadržava polifenole, koji su poznati po svojim antioksidativnim svojstvima. Proizvod koji sadržava 1 % polifenola CoffeeBerry® (Revaléskin™, Stiefel

Laboratories) globalno je predstavljen 2007. g. Uporaba proizvoda kroz 6 tjedana može rezultirati značajnim poboljšanjem kod hiperpigmentacije, finih linija, bora i općeg izgleda kože. Do sada nije bilo pritužbi potrošača s osjetljivom kožom na iritacije izazvane uporabom proizvoda. Da bi se tvrdnja proizvođača ozbiljno shvatile potrebne su dodatna randomizirana i kontrolirana istraživanja kojima će se ocijeniti antioksidativni učinci topikalnih pripravaka s ekstraktom CoffeeBerry® (176).

4.3.6. Silimarin

Silimarin se dobiva iz sikavice (*Silybum marianum*). Prirodni je polifenolni flavonoid. Glavni konstituent silimarina je silibin (silibinin) biološki najaktivniji. Posjeduje snažna antioksidativna svojstva (177). *In vivo* studije su pokazale fotoprotektivne učinke topikalne primjene silibina prije ili neposredno nakon izlaganja UV zračenju. Prema tome, postoje dokazi koji potkrepljuju opravdanost uključivanja ovog kompleksa u sredstva za zaštitu od sunca (178).

4.3.7. Piknogenol

Piknogenol je ekstrakt izoliran iz kore francuskog primorskog bora (*Pinus pinaster*). Sadržava flavonoide i fenolne spojeve koji djeluju kao snažni hvatači slobodnih radikala. Primijećena je imunosupresija i smanjenje upalne reakcije kod opeklini od sunca u miševa nakon topikalne primjene piknogenola udjelom od 0,05 % do 0,2 % (179).

Piknogenol se veže na kolagen i elastin štiteći ih od slobodnih radikala, te ujedno smanjuje nastale znakove fotostarenja. Pedesetak puta je jači antioksidans od vitamina E i dvadeset puta od vitamina C.

4.3.8. Ferulična kiselina

Ferulična kiselina je biljnog podrijetla, te se smatra da djeluje kao potentan antioksidans štiteći kožu od fotooštećenja, pogotovo u kombinacijama s vitaminima C i E (180). Može se očekivati da ferulična kiselina zbog različitog mehanizma djelovanja od poznatih sredstava za zaštitu od sunca koristi kao dopunska zaštita u istima.

4.3.9. Resveratrol

Resveratrol je otkriven u ovojnici crnog grožđa. Prirodni je fungicid, antivirusnog i antitumorskog djelovanja. Antioksidans resveratrol je polifenolni spoj fitoaleksin, kojeg nalazimo u grožđu,

orasima, voću i crnom vinu. Resveratrol je vrlo popularni antioksidans za primjenu u kozmetičkim proizvodima (181). Dobiva se iz vrste *Polygonum cuspidatum*.

In vitro i *in vivo* studije su pokazale kada se primjenjuje resveratrol topikalno, štiti kožu od oštećenja posredovanog UVB zračenjem i inhibira oksidativni stres (182). Često kozmetički proizvodi sa aktivnom tvari resveratrol na deklaracijama sadrže tvrdnje o povoljnom učinku protiv starenja kože. Učinak resveratrola na ljudsku kožu i nastalo fotostarenje još uvijek se istražuje kliničkim studijama (183).

No, on ima i druge zanimljive biokemijske funkcije, djelujući na proteine sirtuine koji mogu potaknuti regeneraciju i usporiti starenje kože. Idealan je za anti-age kozmetiku i za kožu izloženu stresu. Teško ga je svrstati u određenu klasu, jer osim što stimulira sintezu kolagena može djelovati i kao aktivna tvar kod hiperpigmentacija inhibirajući tirozinazu i smanjujući time sintezu melanina. U kozmetičkim proizvodima kao aktivna tvar nalazi se u vodenoj fazi proizvoda s udjelom od 3 do 5% (184).

4.3.10. Alantoin

U prirodi je prisutan u biljnim (gavez) i životinjskim izvorima (pužev gel). Alantoin je biljni metabolit, derivat urinske kiseline.

Alantoin je sastojak koji se u kozmetici koristi već 70 godina te ima dokazanu ulogu u umirivanju i zacjeljivanju kože.

Alantoin je aktivator staničnog rasta, potiče epitelizaciju i regeneraciju kože. Ima snažno protuupalno djelovanje pa je čest sastojak kozmetike za njegu kože podložne upalnim procesima, poput atopijskog dermatitisa, ekcema, psorijaze, akni. Zbog regenerativnog djelovanja koristiti se u anti age kozmetici.

Dodaje se u malom udjelu (0.2 - 0.5%) u tonike, kreme, mlijeka za tijelo i druge pripravke (vodena faza) na temperaturi do 50°C . Udio veći od 2% djeluje kao keratolik (185).

4.3.11. N6-furfuriladenozin

N6-furfuriladenozin je biljni faktor rasta koji štiti biljku i usporava stanično starenje. *In vitro* na ljudskim stanicama pokazuje sličan antioksidacijski efekt. S obzirom da je novija aktivna tvar u

kozmetičkim proizvodima zbog nedovoljnog broja kliničkih ispitivanja sve tvrdnje o djelotvornosti razmatraju se sa oprezom (186).

4.3.12. Fotolijaza

Fotolijaza je DNA obnavljajući enzim dobiven iz bakterija. Neke studije su pokazale da topikalnom aplikacijom na oštećenu kožu od dugotrajne izloženosti UV zračenju smanjuje učestalost nastanka aktiničkih keratoza, bazalnog epitelioma (187). Jednogodišnjim tretmanom incidencija je smanjena za 40-45%. S obzirom na učestalost aktiničkih keratoza prikazanih kao globalna epidemija fotooštećenja kože, farmaceutska industrija nastoji ubrzati razvoj adekvatnog medicinskog proizvoda primjenom DNA obnavljajućeg enzima kao najnovije aktivne tvari (188).

4.4. Čimbenici rasta

Čimbenici rasta reguliraju unutarstaničnu i međustaničnu signalizaciju koje su ključne u cijeljenju rana. Stotine različitih čimbenika rasta pomaže u liječenju rana posredujući u angiogenezi, reguliranju proteina matriksa kao što su kolagen i proteoglikani, te u poticanju mitoze fibroblasta, endotelnih stanica, keratinocita i hematopoetskih stanica (189).

Čimbenici rasta predstavljaju grupu kozmeceutskih tvari potencijalno djelotvornih u smanjivanju znakova fotostarenja kože jer obnova oštećene kože zahtijeva remodeliranje tkiva slično kao i kod cijeljenja kroničnih rana.

U pilot istraživanju na 14 dobrovoljaca sa fotooštećenom kožom primijenjivana je dva puta dnevno kroz 60 dana kombinacija raznih čimbenika rasta dobivena iz kulture ljudskih fibroblasta. Na kraju istraživanja kod 11 od 14 dobrovoljaca (79%) uočeno je kliničko poboljšanje bora. Rezultati biopsije pokazali su povećanje formiranja novog kolagena za 37% i povećanje epidermalne gustoće kože za 27%. Potrebno je provesti dodatna ispitivanja kako bi se objasnile sve uloge čimbenika rasta u smanjivanju nastalog fotooštećenja kože, te kako bi se razjasnilo koji čimbenici rasta su najdjelotvorniji. Pretpostavlja se da konačne ishode ispitivanja određuje interakcija velikog broja čimbenika rasta (190).

Kliničkim ispitivanjima potvrđen je pri topikalnoj primjeni na kožu njihov učinak u ublažavanju promjena koje se javljaju starenjem.

Smatra se da čimbenici rasta i citokini mogu iskazati svoj pozitivan učinak u dermisu temeljem dvaju mehanizama. Prvi je njihova permeacija putem folikula dlake, znojnih žlijezda ili oštećene

kože, a drugi se temelji na njihovoj interakciji sa keratinocitima u epidermisu koji zatim proizvode signalne citokine koji utječu na fibroblaste u dermisu. Keratinociti na svojoj površini ekspimiraju receptore za različite čimbenike rasta i citokine. Permeacija čimbenika rasta ili citokina u maloj koncentraciji u žive slojeve epidermis potiče keratinocite na proizvodnju čimbenika rasta/citokina kao što su PDGF, IL11, TGF α i TGF β , koji onda ispoljavaju parakrini učinak na dermalne fibroblaste. Time se potiče proliferacija i aktivacija fibroblasta, što je temelj za regeneraciju i remodeliranje izvanstaničnog matriksa dermisa (190).

U slučaju neinvazivnog, neablacijskog laserskog postupka, topikalna primjena čimbenika rasta bi mogla pridonijeti ubrzanom ili poboljšanom procesu cijeljenja. Djelovanjem lasera mijenja se i barijerna funkcija kože što može dovesti do poboljšanja dermalne apsorpcije čimbenika rasta. Topikalna primjena čimbenika rasta prije samog laserskog postupka bi također mogla biti vrlo učinkovita zbog pripreme kože za robusniji odgovor na laserski postupak (191).

4.4.1. Epidermalni faktor rasta (EGF)

Za normalno funkcioniranje višestaničnih organizama potrebno je osigurati adekvatnu komunikaciju između stanica. Ključnu ulogu u međustaničnom signaliziranju imaju signalne molekule. One se vezuju za specifične receptore na membranama stanica i time na nekoliko načina prenose poruku o svojoj nazočnosti. Ovaj proces, od prepoznavanja prisutnosti signalne molekule do formiranja fiziološkog odgovora zove se provođenje signala.

Jedan od primjera molekulskog signala koji izaziva fiziološki odgovor jest i epidermalni čimbenik rasta (EGF). EGF je protein bitan za zdravlje ljudske kože i to kao stanični aktivator. Veže se za svoj stanični receptor, te tako stimulira rast epidermisa i diferencijaciju epidermalnih stanica. Faktori rasta su mali proteini, prirodno prisutni u koži, a organizam ih luči i prilikom povrede kože. Stoga su izuzetno važni u procesu zacjeljivanja rana i regeneracije struktura kože, pa i vezivnog tkiva, kolagena i elastina. Izlučivanje EGF-a, kao odgovora na ozljedu, potiče stanice na rast i diobu. Utvrđeno je da bi EGF mogao liječiti ne samo ožiljke na koži, nego i osvježiti i pomladiti kožu. Međutim s godinama se koncentracija EGF smanjuje i upravo njegov nedostatak vodi starenju kože. Ukoliko shvatimo bore kao povredu kože koja ne zacjeljuje, kliničkim istraživanjima je dokazano ako koži dodajemo njen vlastiti EGF, koža ga prepoznaje, te dolazi do povećane proizvodnje kolagena i elastina (192). Postoje kozmetički proizvodi koji sadrže jedan ili dva faktora rasta, koji pojedinačno ne mogu pokrenuti proces regeneracije

struktura kože. Da bi se epidermis potaknuo na regeneraciju, potreban je kompleks faktora rasta kakav se prirodno nalazi u koži. Pravim udjelom faktora rasta moguće je potaknuti stanice da se ponašaju kako su se ponašale u mladosti. Koži se vraća prirodni sjaj, vlažnost i zategnutost, a vidljive bore se ublažavaju.

4.5. Hormoni u kremama protiv starenja kože

Topikalnom primjenom hormona u kožu nastoje se ublažiti proces starenja. Topikalna primjena hormona još uvijek nije u većoj uporabi zbog incidencije hormonski uvjetovanog karcinoma dojke. Potrebne su brojnije studije o neškodljivosti.

4.5.1. Estrogeni

Nakon 6-mjesečne topikalne uporabe 0,01% estradiola i 0,3% estriola značajno su poboljšani elastičnost kože, smanjena je veličina pora i dubina bora. Primjetan je porast tipa III kolagena i kolagenskih vlakana (193,194).

Estrogeni i fitoestrogeni mogu ometati proces staničnog starenja posredstvom mehanizama koji su povezani s estrogenskim receptorima (ER-ovi), receptorom spregnutim s G-proteinima GPR30, funkcijom mitohondrija i oslobađanjem dušikova oksida (NO). To je, međutim, i danas predmet rasprave. Dalje se proučavaju učinci što ih izazivaju 17 β -estradiol i genistein djelujući protiv peroksidacije u ljudskim keratinocitima/fibroblastima. U fiziološkim uvjetima, 17 β -estradiol/genistein su smanjivali oslobađanje NO iz fibroblasta/keratinocita. Povećala se razina GSH i stopa proliferacije keratinocita (195).

4.5.2. Progesteron

Progesteron kao aktivna tvar u kozmetičkim proizvodima također ima vrlo malo kliničkih studija. Smatra se da topikalna primjena sprječava kemijske promjene u kolagenskim vlaknima nastale kao posljedica biološkog procesa starenja (196).

4.6. Peptidi u kozmetičkim proizvodima

Peptidni kozmeceutici su relativno nove aktivne tvari koje se koriste u kozmetičkim proizvodima.

Iako njihove prednosti trenutno nisu dovoljno ispitane, dokazi o njihovoj upotrebi u stalnom su porastu. No, mišljenja oko njihovih učinaka su dvojbeni. Od tvrdnji da nema konkretnih dokaza o njihovom djelovanju do predviđanja velikog potencijala primjene u budućnosti. U stručnoj

literaturi nema puno podataka o njihovim istraženim neželjenim učincima, ali svejedno treba ih primjenjivati s oprezom.

Postoji značajan broj potencijalno aktivnih peptidnih tvari koje se mogu koristiti u proizvodima za njegu kože, posebno uzimajući u obzir brojne peptidne aktivne tvari koje su kao sirovina dostupne za izradu kozmetičkih proizvoda (197).

Omjer cijene i učinkovitosti kozmetičkog proizvoda ključan je čimbenik njegovog uspješnog oblikovanja. Sukladno tome ograničavajući čimbenik korištenja pojedinog peptida pri oblikovanju kozmetičkog proizvoda je primjeren odnos isplativosti i potrebnog udjela peptida u kozmetičkom proizvodu u svrhu maksimalnog učinka.

Smatra se da topikalni peptidi djeluju kao stanični glasnici, građeni su od aminokiselina i oblikovani da oponašaju peptidne fragmente s endogenom biološkom aktivnošću (198). Zbog mogućih različitih sljedova aminokiselina i zbog njihovih različitih derivata, broj peptida je neograničen.

Peptidi su molekule velike molekularne mase a pri fiziološkom pH su hidrofilni. Peptide karakterizira niska permeabilnost kroz epidermis što im ograničava topikalnu primjenu. Zbog toga se u formulacijama kozmetičkih proizvoda koji sadrže peptide kao aktivne tvari koriste tzv. pojačivači apsorpcije, uglavnom masne kiseline. Peptidi su podložni razgradnji i u samoj formulaciji proizvoda, ali i enzimskoj razgradnji prolaskom kroz epidermis. U svrhu stabilizacije molekule često se tvori konjugat sa L- askorbinskom kiselinom (199).

Peptidi koji mogu povećati stvaranje kolagena u fibroblastima ili smanjiti razgradnju postojećeg kolagena inhibirajući kolagenazu. Potencijalno bi mogli poboljšati klinički izgled finih i grubih bora koje nastaju u oba tipa starenja kože (kronološko i fotostarenje) (200).

Kao rezultat ispitivanja na rast ljudskih fibroblasta otkriveni su određeni bioaktivni lanci aminokiselina koji mogu potaknuti ljudske fibroblaste na rast u *in vitro* uvjetima i smanjiti dubinu i veličinu bora *in vivo* (201).

Tri su kategorije peptida prisutne u kozmetičkim proizvodima protiv starenja: peptidi nosači (pr. pal-KTTKS ili zaštićenog imena Matrixyl) (202), neurotransmiteri (pr. Ac-EEMQRR ili zaštićenog imena Argirelin) (203) i modulatori enzima (pr. proteini soje i riže).

Najpopularniji i najviše ispitivani peptid koji modulira signalne puteve je peptid lizin-treonin-treonin-lizin-serin (KTTKS) pronađen u prokolagenu tipa I. Peptidu sa vezanom masnom kiselinom (palmitinska kiselina) povećana je lipofilnost i koeficijent permeabilnosti. Stoga mu se povećava dermalna bioraspoloživost s mjestom učinka u dermisu.

Valin-glicin-valin-alanin-prolin-glicin peptid, otkriven je ispitivanjem elastin deriviranog peptida, koji značajno stimulira stvaranje fibroblasta. Kombinacija takvog peptida s palmitinskom kiselinom, koja pomaže penetraciji peptida, prisutna je u mnogim kozmetičkim proizvodima pod nazivom palmitoil oligopeptid.

Ispitana je i uloga tirozin-tirozin-arginin-alanin-aspartam-aspartam-alanin peptidnog slijeda. Pronađeno je da takav peptid inhibira prokolagen-C proteinazu, koja cijepa C-propeptid u prokolagenu tipa I što dovodi do smanjenja razgradnje kolagena.

Tripeptid glicil-L-histidil-L-lizin (GHK) poznat je kao peptid koji modulira prijenosne nosače, ali je uočeno da djeluje i na neke signalne puteve. GHK bez bakra povećava stvaranje kolagena stimuliranjem fibroblasta (204). Također se kombinira s palmitinskom kiselinom i kao takav je poznat pod nazivom Biopeptid-CL. *In vitro* i *in vivo* istraživanja potvrđuju njegovu stimulaciju u sintezi kolagena i glikozaminoglikana, te smanjenje veličine i dubine bora i hrapavosti kože (205).

Lipospondin, tripeptid povezan sa elaidinskom kiselinom oblikovan je da povećava stvaranje kolagena i tkivnog inhibitora metaloproteinaze 1 (TIMP-1) i smanjuje MMP-1 u fibroblastima (206).

Tripeptid, lizil-valin-lizin, također pokazuje slične učinke na transformirajući čimbenik rasta kada se kombinira s palmitinskom i bistrifluorocetenom kiselinom. Poznat je pod nazivom palmitoil-tripeptid-3/5 ili Syn-Coll.

4.6.1. Pal-KTTKS (zaštićen naziv Matrixyl)

Pal-KTTKS je potentan peptid s pozitivnim učincima i u najnižim dozama. U dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj studiji uzrokovao je poboljšanje izgleda naborane kože. Palmitol pentapeptid, vrsta peptida za topikalnu primjenu poznata i pod nazivom Pal-KKTKS (Matrixyl™, Sederma), ispitan je u kontroliranoj, dvostruko slijepoj, randomiziranoj studiji na 93 žene u dobi između 35 i 55 godina s tipom kože I – III po Fitzpatrickovoj ljestvici, koje su nanosile ispitivani peptid/pripravak na jednu stranu lica i placebo na drugu stranu lica (lijevo i desno) tijekom 12

tjedana. Koncentracija Pal-KTTKS iznosila je 3 ppm; obje grupe tretirane su dvaput dnevno tijekom 12 tjedana. Uočena su poboljšanja u izgledu i duljini bora. Na ispitanicima niska doza i način primjene pokazali su se učinkovitim i nisu izazvali iritacije kože (crvenilo, suhoća, svrbež). Također takva doza nije utjecala na funkcije kožne barijere (202).

4.6.2. Survixyl IS

Survixyl IS (Vincience Biofunctionals (Lucid Inc.)) je peptid koji osigurava potpunu okolinu za epidermalne matične stanice. Kompleks se sastoji od survivina koji sprečava apoptozu uslijed gubitka stanične adhezije, p63 koji održava samoobnavljajući potencijal epidermalnih matičnih stanica i 3 proteina koji utječu na sidrenje, integrin beta-1, integrin alfa-6 i keratin 15, protein citoskeleta koji nalazimo u matičnim i progenitorskim stanicama. *In vivo* podaci dolaze iz dvostruko slijepe, placebom kontrolirane studija na 10 pacijenata koji su nanosili Survixyl IS u koncentraciji od 1 % na kožu bedra dvaput dnevno, tijekom dva tjedna. Sedmog dana tretirano područje je izloženo UV zračenju u dovoljnoj mjeri da izazove pojavu oštećenja stanica. Te su stanice prebrojene uz pomoć konfokalnog mikroskopa *in vivo* na 8., 9. i 13. dan.

In vivo, primjenom refleksijske konfokalne mikroskopije, otkriveno je da Survixyl IS smanjuje broj oštećenih stanica za 33,8% nakon izlaganja ultraljubičastom svjetlu. U usporedbi s kontrolnim područjima na kojima nije korišten Survixyl IS, tretirana područja imala su 24 – 34 % manje oštećenih stanica na 8. dan i 33, 8% manje oštećenih stanica na 13. dan. U sličnoj dvostruko slijepoj, placebom kontroliranoj studiji primjene Survixyla IS u koncentraciji od 1 % na koži bedra tijekom 29 dana korišten je refleksijski konfokalni mikroskop za procjenu dermalnih papila *in vivo*. Otkriveno je povećanje broja aktivnih dermalnih papila od 30 % kod primjene proizvoda. Kako je pokazala konfokalna mikroskopija nakon 29 dana uporabe dvaput dnevno *in vivo*. Postoje *ex-vivo* studije koje dokumentiraju učinak kompleksa Survixyl IS na sva tri navedena proteina. Na primjer, vezano za survivin, uočeno je povećanje od 20,5% kod bojenja epiderme na bazama epidermalnih grebena u uzorcima koji su uzeti biopsijom kože nakon inkubacije s Survixylom IS u koncentraciji od 0,5 % i povećanje od 55 % nakon inkubacije s Survixylom IS u koncentraciji od 1 % (207).

4.6.3. Quintescine IS

Quintescine IS je peptid (dimer) koji oponaša glutation i povećava razinu antioksidacijskih enzima koji uklanjaju reaktivne vrste kisika. Također smanjuje glikaciju pa se vlakna kolagena manje skrućuju. U *in vitro* modelu kulture fibroblasta, kultura s peptidom Quintescine IS povećava razine

mangan-superoksid-dismutaze (MnSOD) i katalaze, posebno u prisutnosti stresora poput UVA zračenja. MnSOD je hvatač slobodnih radikala koji katalizira raspad štetnih reaktivnih vrsta kisika poput superoksid-dismutaze na vodikov peroksid, koji se zatim razgrađuje na vodu i kisik djelovanjem enzima katalaze. Fibroblasti proizvode 33 % više MnSOD-a i 23 % više katalaze kada je prisutan Quintescine IS. Karbonilacija proteina također je smanjena kad je prisutan Quintescine IS: 36 % bez izlaganja UVA zračenju kao stresoru i 137 % uz izlaganje UVA zračenju kao stresoru. Lipidna peroksidacija smanjena je za 44 % kada je prisutan Quintescine IS uz izlaganje UVA zračenju kao stresoru. Oštećenje DNA inducirano UVB zračenjem smanjeno je za 73 % u ovom modelu kulture fibroblasta kada je Quintescine IS dodan u medij za uzgoj. Glikacija proizvodi unakrsne veze koje skrućuju kolagenska vlakna i smanjuju elastičnost tkiva. Quintescine IS je smanjio glikaciju za 33 % u *in vitro* modelu kulture fibroblasta. Povoljno djelovanje također je uočeno na uzorcima od 6 mm uzetima incizijskom biopsijom kože *ex vivo*, uz primjenu metilglioksala kao stresora: zaštita je povećana za 30 - 33% (207).

4.6.4. Peptidi bakra

Peptidi bakra koriste se kao aktivna tvar u njezi kože protiv starenja. *In vitro* i *in vivo* istraživanja potvrđuju stimulaciju u sintezi kolagena i glikozaminoglikana, te smanjenje veličine i dubine bora i hrapavosti kože.

Bakar je sastavni dio citokrom-c oksidaze i superoksidaze dismutaze koji imaju ulogu u stvaranju stanične energije i posjeduju antioksidativna svojstva. Također je esencijalan za normalan rast, razvoj i funkcioniranje ljudskog organizma (208). Bakar je vezan za glicin, histidin i lizin koji se koriste u sintezi peptida bakra. Djeluje kao esencijalni kofaktor smanjenjem MMPs i aktivnosti kolagenaze.. Štetni učinci slobodnih radikala objašnjeni su u ispitivanjima fotostarenja kože. Superoksid dismutaza djeluje kao antioksidans i potreban joj je bakar kao kofaktor. Kompleks tripeptida glicil-L-histidil-L-lizin (GHK) i bakra olakšava ulazak bakra u stanicu. Takav peptidni slijed pronađen je u proteinima izvanstaničnog matriksa (primjerice u alfa lancu kolagena) i pretpostavlja se da biva otpušten tijekom cijeljenja rane i upala. Smatra se da primjenom kozmetičkih proizvoda s peptidima bakra poboljšava se čvrstoća i tekstura kože, umanjuju se fine linije i hiperpigmentacija.

GHK-Cu kompleks povećava razinu MMPs i pomaže u pregradnji kožnog tkiva. Također stimulira kolagen I, glikozaminoglikane, citokrom-c oksidazu i tirozinazu. Kao što je ranije spomenuto takav peptid potiče i povratnu spregu obnove kolagena, ali se glavni učinci na fotostarenje kože pripisuju povećanoj dostavi bakra u stanicu.

Ispitivanjima na modelu rane *in vivo* i kulturi fibroblasta štakora *in vitro* utvrđeno je da GHK-Cu kompleks stimulira proizvodnju kolagen tipa I i glikozaminoglikana, dermatan sulfat i hondroitin sulfata. Kultura ljudskih fibroblasta pokazala je povećanje sinteze dermatan sulfata i heparin sulfata nakon primjene GHK-Cu kompleksa (210). Ograničenim kliničkim ispitivanjima na pacijentima primjenom kozmetičkih proizvoda s GHK-Cu kompleksom kao aktivnom tvari utvrđeno je poboljšanje izgleda finih linija i povećanje gustoće kože. Zahtijevaju primjenu znatno većih doza, pa za Cu-GHK doza iznosi 2%.

4.6.5. Peptidi koji moduliraju neurotransmitere

Peptidi koji moduliraju neurotransmitore kao aktivna tvar u kozmetičkom proizvodu razvijeni su tako da oponašaju djelovanje botulinum neurotoksina.

FDA je odobrila samo botulinum neurotoksin tipa A (BTX-A) za supkutanu, intradermalnu i intramuskularnu primjenu u području lica (211). Svi serotipovi ovog neurotoksina (A-G) su jednolančani polipeptidi koji inhibiraju otpuštanje acetilkolina u neuromuskularnu sinapsu u tri stupnja. Upotrebom takvih polipeptida inhibiraju se kontrakcije mišića lica i značajno se smanjuju hiperkinetičke linije lica. Topikalna primjena peptida koji moduliraju neurotransmitore smanjuje kontrakcije mišića lica te smanjuje linije i bore (213).

Acetil heksapeptid-3 (AC-gly glu-met-gln-arg-arg-NH₂) sintetički je peptid proizveden po uzoru na N-terminalni kraj proteina SNAP-25 koji inhibira stvaranje SNARE kompleksa i otpuštanje kateholamina. Takav peptid poznat je pod nazivom Argireline. Pronađeno je da acetil heksapeptid-3 inhibira vezanje vezikula sprječavajući stvaranje trostrukog SNARE kompleksa koji sudjeluje u egzocitozi sinaptičkih vezikula. Kliničkim ispitivanjem 5% acetil heksapeptid-3 kreme na uzorku od 10 žena kroz 30 dana uočeno je poboljšanje periorbitalnih bora od 27% (212).

Walglerin-1 je neurotoksin izoliran iz otrova zmije koji se reverzibilnim antagonizmom veže za nikotinske receptore acetilkolina na postsinaptičkoj membrani. Pretpostavljeno je da se veže na ipsilon podjedinicu nikotinskih receptora sprečavajući vezanje acetilkolina. Posljedično natrijevi ioni ne mogu ući u stanicu i depolarizirati ju pa mišići ostaju relaksirani. Ispitivanjima je potvrđeno smanjenje kontrakcije mišića i dubina bora.

Sigurnost i učinkovitost peptidnih kozmeceutika pretežno se ispituje na različitim staničnim modelima. Takva *in vitro* ispitivanja mogu služiti kao primarna ispitivanja mogućih aktivnih tvari. Svakako su potrebna daljnja klinička ispitivanja njihove učinkovitosti i sigurnosti primjene.

Brojni su peptidni kozmeceutici razvijeni i uspješno uklopljeni u suvremene kozmetičke proizvode koji su komercijalno dostupni na različitim svjetskim tržištima. U svrhu osiguravanja učinkovitosti peptidnih kozmeceutika potrebno je osigurati njihovu stabilnost pri izradi i čuvanju kozmetičkog proizvoda. Podloga kozmetičkog proizvoda značajno utječe na topljivost i termodinamičku aktivnost peptidnih kozmeceutika, a što u konačnici određuje njihovu raspodjelu iz podloge do vijabilnih slojeva dermisa. Ciljana mjesta djelovanja peptidnih kozmeceutika su vijabilni slojevi dermisa pa učinkovitost i sigurnost primjene ovisi o stabilnosti peptidnih kozmeceutika pri njihovom prijenosu preko barijere kože (201).

Bolje razumijevanje uloge konstitutivnih peptida kože u zdravlju i bolesti moguće će pridonijeti razvoju novih peptidnih aktivnih tvari i unaprijediti njihovu primjenu u suvremenim kozmetičkim proizvodima.

Tvrđnje o peptidu koji je poznat kao argirelin, tj. acetil heksapeptid-8 (Ac-EEMQRR-amid), a koristi se u kozmetičkim proizvodima, sugeriraju da se njegov mehanizam djelovanja protiv bora zasniva na interferenciji s neuromuskularnim signalima (203).

Stoga je proučena penetracija u kožu komercijalno dostupnog Ac-EEMQRR-amida iz kozmetičke formulacije (emulzija U/V, tj. ulje u vodi) na koži bezdlakih zamorčića i na koži ljudskog kadavera in vitro ispitivanjem uz korištenje difuzijske ćelije. Emulzija U/V s 10 % OAc-EEMQRR-amida nanosena je na kožu u dozi od 2 mg/cm. Penetracija Ac-EEMQRR-amida u kožu mjerena je u slojevima kože putem tekućinske kromatografije. Ac-EEMQRR-amid koji je penetrirao u kožu uglavnom se zadržao u rožnatom sloju kože zamorčića (0,54%) i ljudske kože (0,22%), pri čemu se razina peptida smanjivala sa svakim novim slojem. Ukupna razina Ac-EEMQRR-amida pronađena u epidermisu zamorčića i u ljudskoj koži bila je slična i iznosila je 0,01 %. U ljudskoj koži i koži zamorčića nije uočena prisutnost peptida u dermisu ili puferu receptorskog odjeljka ispod kože (212).

Nije otkrivena prisutnost metabolita heksapeptida (H₂N-EEMQRR-amid) ni u jednom od slojeva kože zamorčića, ljudske kože ili pufera nakupljenog ispod kože (214).

Postoji zabrinutost zbog mogućnosti da peptidi prodiru u dublje slojeve kože, te će stoga dobiveni rezultati o penetraciji u kožu biti korisni za ocjenu sigurnosti kozmetičkih proizvoda koji sadržavaju male peptide kao aktivnu tvar.

4.7. Tvari za izbjeljivanje ili hipopigmentaciju kože

4.7.1. Hidrokinon

Hidrokinon, je najčešće korištena aktivna tvar za izbjeljivanje površinskih slojeva kože. Fenolni spoj u prirodi je prisutan u mnogim biljkama, te u kavi, čaju, pivi i vinu. Inhibira aktivnosti tirozinaze (215).

Topikalno primjenjen hidrokinon u koncentraciji od 2% do 4%, sam ili u kombinaciji s tretinoinom koncentracije 0,05% do 0,1% uspješno je korišten u liječenju melazme (216).

Upotreba hidrokinona može iritirati kožu i izazvati kontaktni dermatitis, uglavnom u dozama od 4% ili više ili u kombinaciji s tretinoinom, što predstavlja problem kod upotrebe (217). Također je i nestabilan, lako oksidira u kozmetičkim proizvodima. Stoga je bitno da je proizvod primjereno pakiran u posebnim spremnicima, kako bi se izbjeglo izlaganje svjetlu i kisiku. Vrlo rijetko zabilježena nus pojava uporabe hidrokinona je egzogena ohronoza koja je karakterizirana progresivnim tamnjenjem područja kože koje je bilo izloženo djelovanju hidrokinona.

Derivati hidrokinona također pokazuju obećavajuće rezultate u izbjeljivanju kože. Najveća koncentracija koju je odobrila FDA za upotrebu u kozmetici je 2%, a veće doze su dostupne uz preporuku i tretiranje u dermatološkim ordinacijama. Posljedica upotrebe hidrokinona je pojava kontaktnog dermatitisa, te rjeđe ohronoza (216).

Jedan od derivata hidrokinona je arbutin (β -D-glukopiranozid), spoj izoliran iz lista medvjette, brusnice, murve ili grmlja borovnice, te iz mnogih vrsta krušaka. Čisti oblici arbutina, kao što su α -arbutin, β -arbutin i deoksiarbutin, smatraju se učinkovitijim tvarima za izbjeljivanje kože (219).

U *in vitro* istraživanjima, deoksiarbutin je učinkovitije inhibirao tirozinazu gljive od hidrokinona i arbutina. U kliničkim ispitivanjima topikalna primjena deoksiarbutina kroz 12 tjedana značajno je poboljšala stanje kože. Inhibicija sinteze melanina ovisi o primijenjenoj dozi arbutina. Klinička ispitivanja moraju utvrditi u kojim koncentracijama ili u kojim podlogama je arbutin djelotvorniji u izbjeljivanju kože, te koji su nedostaci primjene (220).

U drugim istraživanjima prikazano je kako drugi fenolni derivati djeluju na B16 stanice melanoma. Istraživanje je pokazalo da bifenilni derivat, 2,2'-dihidroksi-5,5'-dipropil-bifenil (DDB) učinkovitije smanjuje sintezu melanina. DDB inhibira sazrijevanje tirozinaze što dovodi do ubrzane razgradnje tirozina. S obzirom na testiranja, DDB može biti potencijalna tvar za depigmentaciju kože, ali uz nužno povećanje broja znanstvenih studija (221).

4.7.2. Kojična kiselina

Kojična kiselina je dikarboksilna kiselina izolirana iz gljive *Pityrosporum ovale*. Inhibira aktivnost tirozinaze, mitohondrijske oksidoreduktaze te sintezu DNA (222). U svrhu smanjenja

hiperpigmentiranih područja kojična kiselina koristi se topikalno, dva puta dnevno, u razdoblju od 3 do 12 mjeseci te u koncentraciji od 15% ili 20% (223).

Neka istraživanja pokazala su da kojična kiselina u odnosu na hidrokinon pokazuje puno bolje učinke u liječenju melasme, dok druga istraživanja nisu uočila značajne razlike.

Piling glikolnom kiselinom u koncentracijama od 30% do 70% prije apliciranja depigmentirajuće aktivne tvari, može poboljšati njihovu penetraciju. Kombinacijom steroida i kojične kiseline u topikalnoj primjeni mogu se smanjiti iritacije izazvane kojičnom kiselinom. U jednom istraživanju, upotreba kombinacije 0,05% hidrokinona, 10% glikolne kiseline i 2% kojične kiseline pokazala se mnogo učinkovitijom u liječenju melasme od primjene kombinacije 2% hidrokinona i 10% glikolne kiseline.

Pouzdana dokazi *in vitro* i *in vivo* istraživanja pokazali su da je kojična kiselina učinkovita u smanjenju sinteze melanina. Kojična kiselina je nestabilna u kozmetičkim proizvodima. Nakon izlaganja zraku ili sunčevu svjetlu razgrađuje se do smeđe obojenog produkta i gubi svoju učinkovitost. Stoga je sintetiziran je stabilni derivat, 5 - [(3 - aminopropil) fosfinoksi] - 2 - (hidroksimetil) - 4H - piran-4-on (kojil-APPA). Primjena takvog derivata na ljudske melanocyte pokazala je značajnu inhibiciju aktivnost tirozinaze u vremenskom periodu od 24 sata (225). Pokazalo se dodatno smanjuje količine melanina do 75% na kontrolnim stanicama melanoma i smanjenje sinteze novog melanina do 43%. Permeacija kroz kožu povećana je 8 puta u odnosu na kojičnu kiselinu. Međutim, ne postoji dovoljno dokaza o kliničkoj djelotvornosti i sigurnosti primjene ovog derivata.

4.7.3. Hidroksilne kiseline

Glavna uloga hidroksilnih kiselina u kozmetičkim proizvodima protiv starenja kože je odstranjivanje starih korneocita rožnatog sloja epidermisa (226). Mehanizam njihova djelovanja još nije u potpunosti razjašnjen (227).

Dijele se na α -hidroksilne kiseline, β -hidroksilne kiseline i polihidroksilne kiseline.

U α -hidroksilne kiseline (AHA) spadaju glikolna, jabučna, vinska, mliječna, limunska i piruvična kiselina (α -keto kiselina). U β -hidroksilne kiseline (BHA) ubrajamo salicilnu kiselinu i njene alkil derivate (npr. oktanoil salicilna kiselina). Glukonolakton i laktobionska kiselina pripadaju grupi polihidroksilnih kiselina.

AHA kiseline, također poznate kao voćne kiseline, uobičajen su sastojak kozmeceutičkih proizvoda (228).

Smanjuju koncentraciju iona kalcija u epidermisu i keliranjem kalcija, uklanjaju ione iz staničnih adhezijskih veza koje slabe, što pospješuje deskvamaciju. Tako smanjena koncentracija iona kalcija obično potiče rast stanica i usporava staničnu diferencijaciju pa stoga koža izgleda mlađe.

α -hidroksilne kiseline (npr. mliječna kiselina i njene soli) imaju sposobnost hidratacije pa se koriste u liječenju suhe kože. Treba obratiti veliku pažnju kod formulacije proizvoda i njihove primjene je moguća iritacija kože. Visoke koncentracije hidroksilnih kiselina i niski pH proizvoda mogu uzrokovati nadraženost i potencijalnu osjetljivost kože.

Na tržištu postoji mnogo različitih oblika i izvora α -hidroksi kiselina (AHA) koje se koriste za depigmentaciju kože. Najčešće proučavane AHA kiseline su glikolna i mliječna kiselina jer zbog svoje male veličine molekula lako mogu penetrirati u gornje slojeve kože (229). Općenito se pretpostavlja da AHA kiseline u koncentracijama od 4 do 15% nisu učinkovite u smanjenju sinteze melanina. Uočeno je da kod pacijenata s melazmom glikolna kiselina sama ili u kombinaciji s hidrokinonom učinkovito smanjuje hiperpigmentaciju.

Međutim, sve je više dokaza o štetnim učincima proizvoda. Nuspojave koje izazivaju AHA kiseline su: crvenilo, stvaranje mjehura, otekline i peckanje kože, svrbež, promjena boje i veća fotoosjetljivost kože. Na pojavnost nuspojava utječu pH i koncentracija kiseline u formulaciji, te vrsta podloge uz učestalost primjene proizvoda (230).

4.7.4. Azelatna kiselina

Topikalna primjena krema ili gelova koji sadrže azelatnu kiselinu u koncentraciji od 15% do 20% učinkovita je u liječenju brojnih kožnih bolesti (npr. akne, rozacea) (231,232).

Kliničko ispitivanje na 329 žena s melazmom koje su primjenjivale širok spektar proizvoda za zaštitu od sunca s 20%-tnom azelatnom kiselinom pokazalo je u 63% dobre ili odlične rezultate (233).

Učinak kreme sa azelatnom kiselinom na smanjenje veličine hiperpigmentirajućih lezija i intenzitet pigmenta kroz 24 tjedna usporediv je s učinkom kreme s 4%-tnim hidrokinonom. Primjenom azelatne kiseline nisu uočene pojave alergijskih senzacija (234). Međutim, dodatna istraživanja su

pokazala da azelatna kiselina više iritira kožu u usporedbi sa kombinacijom hidrokinona i glikolne kiseline.

4.7.5. Ekstrakt šipka (engl. *Pomegranate extract*; PE)

Ekstrakt kore šipka sadrži 90% elagične kiseline i pokazuje inhibitornu aktivnost na tirozinazu gljiva u in vitro uvjetima. Inhibicija ekstrakta je usporediva s inhibicijom arbutina. Takav učinak ekstrakta vjerojatno se događa uslijed inhibicije proliferacije melanocita i sinteze melanina inhibicijom tirozinaze (235). Međutim, potrebno je provesti još kliničkih ispitivanja kako bi se potvrdila učinkovitost i sigurnost primjene PE.

4.7.6. Glabridin

Glabridin je izoflavon snažnog antioksidativnog djelovanja. Izoliran je iz ekstrakta korijena sladića (*Glycyrrhiza glabra L.*). Može inhibirati aktivnost tirozinaze u melanocitima bez citotoksičnog djelovanja i također može smanjiti UVB induciranu pigmentaciju i eriteme, ako se primjeni krema s 0,5%-tnom koncentracijom ekstrakta. Ekstrakt korijena sladića sadrži još aktivnih depigmentirajućih tvari, kao što su glabren, izolikviritigenin, glicirizoflavon i gliasperin, a svaka aktivna tvar inhibira aktivnost tirozinaze različitim intenzitetom (236).

4.7.7. Magnezij-L-askorbil-2-fosfat (MAP)

MAP je stabilni derivat askorbinske kiseline. Krema s 10% MAP pokazuje značajan izbjeljujući učinak na više od polovice pacijenata sa melazmom. Također, pokazuje i protektivni učinak na koži izloženoj UVB zračenju (126).

4.8. Biljne matične stanice

Biljne matične stanice izazivaju velik interes u području borbe protiv starenja. Da bi se usporilo starenje kože, istražuju se razne metode koje bi ojačale i zaštitile stanice kože. Posljednjih godina posebna se pažnja posvetila matičnim stanicama biljaka i njihovom potencijalu u procesu stimulacije proliferacije matičnih stanica kože. Matične stanice razlikuju se od ostalih stanica zbog svojih neobičnih svojstava; sposobnosti proliferacije (kontinuirano razmnožavanje) i diferencijacije u specijalizirane stanice (ovisno o organu u kojem su prisutne), a odgovorne su i za rast i popravak oštećenja tkiva. Biljne matične stanice posjeduju i jača antioksidacijska svojstva od ljudskih stanica (moraju se štititi od vremenskih utjecaja kojima su izložene). Zaštita ljudskih matičnih stanica, poticanje regeneracije kože i sprečavanje procesa starenja kože deklarirani su učinci matičnih stanica biljaka. Treba napomenuti, međutim, da su matične stanice

biljke izuzetno osjetljive na vanjske čimbenike, poput svjetlosti ili temperature, pa se zato u kozmetičkim proizvodima koriste u obliku ekstrakata. Ekstrakti dobiveni iz matičnih stanica biljke izvor su mnogih aktivnih tvari koje su sigurne za ljudsko tijelo, jer ne proizvode odgovor imunosnog sustava. Njihova uporaba ekološki je prihvatljiva i moguća čak i u slučaju teško dostupnih ili ugroženih biljaka, bez izazivanja smetnji i poremećaja u njihovom prirodnom staništu. Matične stanice biljaka odgovorne su za mnoge pozitivne učinke na kožu kao što su: produljenje života fibroblasta i stimuliranje njihove aktivnosti u dermisu, obnova epidremisa, zaštita od UV zračenja. Upravo su ekstrakti matičnih stanica biljke izvrstan izvor poznatih antioksidacijskih spojeva poput polifenola, fenolnih kiselina, flavonoida, triterpena, karotenoida i peptida. Vrlo visoku antioksidacijsku aktivnost pokazali su ekstrakti matičnih stanica maline i runolista. Među analiziranim polifenolnim komponentama, najzastupljenije su bile ferulinska kiselina i kvercetin ramnosid kao i kinetin. Kinetin je citokinski hormon za rast biljaka koji se često koristi i kao aktivna tvar u borbi protiv starenja kože.

4.8.1. Matične stanice jabuke (zaštićen naziv PhytoCellTec Malus Domestica)

PhytoCellTec Malus Domestica temelji se na matičnim stanicama dobivenim iz jabuke Uttwiler Spatlauber. To je rijetka stara sorta švicarske jabuke koja se uzgaja zbog plodova koji bolje podnose skladištenje tijekom zime i neće se smežurati prilikom dugotrajnog skladištenja (240). Matične stanice dobivaju se tako što se biljka najprije zareže te se zatim uzgajaju stanice kalusa koje se formiraju kada biljka nastoji zacijeliti ranu (241). Stanice se mogu propagirati u laboratoriju i stoga su sterilni pripravci dostupni bez obzira na godišnje doba. Napravljeno je nekoliko *in vitro* studija PhytoCellTec pripravaka na bazi matičnih stanica iz jabuke. U jednoj od tih studija fibroblasti su izloženi kemijskom stresu primjenom vodikova peroksida tijekom 2 h, zatim su inkubirani 72 h s ekstraktom matičnih stanica iz sorte domaće jabuke (*Malus Domestica*) u koncentraciji od 2 % ili bez tog ekstrakta. Zatim je analizirana genska ekspresija u fibroblastima (242). U kontrolnoj grupi uočena je regulacija naniže 5 gena za 63- 89 %. U grupi koja je uključivala PhytoCellTec uočena je regulacija naviše za 117- 211% kod istih gena. Druga *in vitro* studija, u kojoj su promatrane matične stanice dobivene iz pupkovine, pokazala je da je inkubacija zajedno s PhytoCellTecom u koncentraciji od 0,01 % i 0,1 % rezultirala progresivnim povećanjem broja stanica, ovisno o koncentraciji, od 70,000 u kontrolnoj grupi do više od 120,000 kod većih koncentracija. Uočena je

i zaštita od oštećenja izazvanih UV zračenjem. Nakon izlaganja UV zračenju izgubljeno je više od 40 % stanica u kontrolnoj grupi, dok je broj izgubljenih stanica u tretiranoj grupi bio manji od 10%.

Istraživanje PhytoCellTeca u kojem je korišten poseban medij za uzgoj stanica prilagođen za progenitorske stanice epiderme pokazalo je da keratinociti uzgojeni u tom mediju imaju deset puta veći broj dvostruko obilježenih stanica CD34/integrin alfa-6 do četvrte pasaže. Kada se te stanice zatim kultiviraju uz ekstrakt matičnih stanica *Malus Domestica* u koncentracijama od 0,01 % i 0,04 %, dolazi do progresivnog povećanja učinkovitosti formiranja kolonija, ovisno o koncentraciji, što je posredni pokazatelj koncentracije i aktivnosti progenitorskih matičnih stanica, od 92 % više nego u kontrolnoj grupi kod većih koncentracija. Sličan učinak uočen je u *in vitro* studiji 3D tkiva epidermisa, što su ga proizvele epidermalne progenitorske stanice. Epidermis, koji su proizvele mlade progenitorske stanice nakon pet pasaža, dobro raste u uobičajenom mediju za uzgoj. Epidermis, koju su stvorile stare progenitorske stanice nakon četrnaest pasaža, raste do 14. dana, ali je zamjetno tanja i slabije razvijena. Ne raste do 21. dana, ali, ako se inkubira s PhytoCellTecom, na 28. dan još uvijek će rasti te će proizvoditi deblju i bolje diferenciran epidermis. Ekstrakt matičnih stanica jabuke uklapa se u liposome pripremljene korištenjem lecitina, što povećava učinkovitost formiranja kolonija ljudskih matičnih stanica *in vitro* i kapacitet za formiranje 3D tkiva epidermisa kod starijih matičnih stanica.

Podaci iz studije o učinku kreme s PhytoCellTecom u koncentraciji od 2 %, s biljnim matičnim stanicama uklopljenima u liposome pripravljen od lecitina, pokazali su povoljan učinak. Tijekom studije, dvadeset žena nanosilo je kremu dvaput dnevno na područje oko očiju tijekom 28 dana, a zatim je uspoređena dubina bora prije i nakon tog razdoblja. Utvrđeno je da se dubina bora smanjila za 15 %, međutim, kako nije upotrebljavana kontrolna krema, teško je procijeniti koji je točno povoljni učinak. U drugoj studiji sudjelovalo je ukupno 37 žena: 21 žena nanosila je placebo serum prije nanošenja placebo kreme dvaput dnevno, a preostalih 16 žena nanosilo je ispitivani serum dvaput dnevno uz ispitivanu dnevnu kremu i ispitivani noćni gel. Kvalitativno istraživanje pokazalo je da pacijentice imaju vrlo pozitivno mišljenje o ispitivanim pripravcima. Hidratacija je procijenjena uz pomoć korneometra te je bila poboljšana u obje grupe bez ikakvih razlika. Analiza boje kože pokazala je određeno poboljšanje u ujednačenosti tena za vrijeme tretmana, ali bez razlika među grupama. Profilometrija kojom su procijenjene bore na koži u 56. danu ipak je

pokazala ukupno smanjenje bora od 12,1 % u tretiranoj grupi, što je statistički značajna razlika u usporedbi s grupom koja je nanosila placebo (243).

4.9. Šećerni amini

Najpoznatiji oblici šećernih amina, korišteni u kozmetičke svrhe su glukozamin i N-acetil glukozamin (NAG) (244).

Glukozamin i NAG prekursori su hijaluronske kiseline, koja ima značajnu ulogu vezanja vode u epidermisu i dermisu. Topikalna primjena takvih spojeva povećava vlažnost kože i pridonosi smanjenju finih linija i bora.

4.9.1. N-acetil glukozamin (NAG)

NAG je eksfolijant koji ometa poprečno povezivanje korneocita. U *in vitro* uvjetima glukozamin inhibira glikozilaciju proteina, inhibira pretvorbu protirozinaze u aktivni enzim tirozinazu te tako inhibira stvaranje melanina. Takvi spojevi također imaju i protuupalni učinak. Istraživanje topikalne primjene NAG pokazalo je da on smanjuje proizvodnju melanina, povećava stvaranje hijaluronana, a genska analiza je pokazala promjenu u ekspresiji gena koji sudjeluju u pigmentaciji kože.

Topikalna primjena 2% NAG iznimno je učinkovita u reduciranju finih linija i bora, te u smanjenju hiperpigmentnih mrlja na licu i podlaktici (245).

U radu s glukozaminom, izazov predstavlja njegova stabilnost što se vidi iz Maillardovae reakcije koja pokazuje da nastaje smeđi polimerni produkt. Takav se problem donekle može riješiti upotrebom antioksidansa i kiselog pH.

NAG je značajno stabilniji od glukozamina pa njegova stabilnost ne predstavlja izazov u oblikovanju proizvoda. Oba spoja u visokoj koncentraciji mogu biti ljepljiva na dodir što rezultira estetskim nedostacima za potrošača.

4.9.2. Hijaluronska kiselina (HA)

Hijaluronska kiselina prirodni je sastojak koji se neprestano proizvodi u našem tijelu i ima brojne važne uloge. Brinući se o primjerenoj hidrataciji vezivnog tkiva, hijaluronska kiselina ima ključnu funkciju u održavanju mladolikog izgleda kože. Upotrebom kozmetičkih proizvoda koji sadrže hijaluronsku kiselinu možemo i sami osigurati povećanu količinu hijaluronske kiseline u koži (246).

Hijaluronska kiselina ili hijaluronan polimerna je molekula šećera koja se prirodno nalazi u ljudskome tijelu. Ima sposobnost vezanja velike količine vode i važan je sastojak izvanstaničnog matriksa. Primjerena vlažnost čini kožu napetom, elastičnom i sjajnom, što zahtijeva dovoljnu količinu hijaluronske kiseline. Kako starimo, u gornjem se sloju kože smanjuje količina nastale hijaluronske kiseline, a u isto vrijeme nastaju molekule koje su kraće, te stoga mogu zadržati manje vode. Osim starenja količinu hijaluronske kiseline u koži smanjuju ultraljubičasto zračenje, nikotin, stres i drugi štetni utjecaji iz okoline (246).

Postoji više vrsta hijaluronske kiseline niskomolekularna, srednjomolekularna i viskomolekularna hijaluronska kiselina. Razlikuju se u duljini lanca polimera i posljedično po veličini molekule. Istraživanja su pokazala da niskomolekularna (20–300 kDa) i srednjomolekularna (300–1000 kDa) hijaluronska kiselina prolaze u epidermis, ali ne prolazi u dublje slojeve. Viskomolekularna (1000–1400 kDa) hijaluronska kiselina ne može proći ni u jedan sloj, stoga nakon nanošenja ostaje na površini kože, gdje utječe na njezin izgled. Na epidermisu stvara zaštitni film i vlaži kožu. Vezanjem vlage ispunjavaju se prazni prostori u koži, pa koža izgleda mekša i napetija, što joj daje mladolik izgled (247).

Ekstrakcija iz životinjskih tkiva bila je prva metoda dobivanja hijaluronske kiseline. Proizvodnja hijaluronske kiseline bakterijskom fermentacijom novi je postupak, za dobivanje hijaluronske kiseline za industrijsku upotrebu (250).

HA je jedna od najkrupnijih molekula u izvanstaničnom matriksu dermisa i epidermisa ljudske kože. Više od 50% ukupne HA u tijelu je prisutno u koži. Ekstracelularne molekule HA su vezane na proteoglikane, posebice versikan, te im je primarna uloga popunjavanje prostora i apsorpcija udaraca (248). Stoga je HA jedna od najčešćih komponenti dermalnih ispuna (engl. *filler*) za popunjavanje dubljih bora (75). Pokazalo se da je vrlo učinkovita u reepitelizacijskim procesima, te kontroli proliferacije i migracije keratinocita iz epidermalnog bazalnog sloja (249).

HA visoke molekulske mase prisutna u losionima za čišćenje i/ili njegu stvara zaštitni film na površini kože, te ne prodire u kožu već samo pruža hidrataciju. Fragmentirana HA s niskomolekulskim fragmentima može penetrirati u kožu i doprinijeti remodeliranju strukture kolagena (247).

Vrlo uspješno se ispituje primjena nove tehnologije uklapanja HA u liposome.

Starenjem zbog degenerativnih promjena fibroblasta i izvanstaničnog matriksa dolazi do gubitka volumena tkiva kože. Povećanjem volumena tkiva neinvazivnim postupcima koristeći biorazgradive nadopune mekog tkiva može se povratiti mladenački izgled licu popunjavajući duboke bore te smanjujući plitke bore. Svojstva idealnog kozmetičkog proizvoda za nadopunu mekog tkiva uključuju biokompatibilnost, neimunogenost, odgovarajuću postojanost, biorazgradivost te mogućnost uklanjanja iz organizma ako je potrebno. Hijaluronsku kiselinu karakteriziraju sva navedena svojstva te su stoga kozmetički proizvodi na bazi hijaluronske kiseline najviše korišteni u nadopuni mekog tkiva kože. Međutim, prirodna hijaluronska kiselina vrlo brzo se razgrađuje u organizmu (vrijeme polurazgradnje 12 h, te se stoga primjenjuje umrežena hijaluronska kiselina. Uz kontrolu brzine razgradnje, umrežavanjem hijaluronske kiseline poboljšavaju se i njezina mehanička svojstva. Umrežavanjem dolazi do geliranja, te intradermalnom primjenom gela hijaluronske kiseline dolazi do povećanja volumena, elastičnosti i zategnutosti kože, poboljšanja hidracije kože te smanjenja bora (251). Učinak je ovisan o koncentraciji i molekulskoj masi hijaluronske kiseline, te procesu i stupnju postignutog umrežavanja.

Unosom hijaluronske kiseline povećan je volumen dermisa (252). Fibroblasti zauzimaju pozitivnu rastegnutu konformaciju te proizvode više kolagena, a manje MMP-ova. Ta hipoteza potvrđena je ispitivanjem stabilizirane hijaluronske kiseline u fotooštećenoj koži. Pokazano je da je proizvodnja kolagena značajno povećana na mjestima primjene hijaluronske kiseline, te je poželjan učinak očuvan do tri mjeseca od aplikacije. Povećana proizvodnja kolagena vezana je s povećanom razinom TGF β i čimbenika rasta vezivnog tkiva (TGF).

4.10. Ceramidi

Ceramidi su esencijalni lipidi rožnatog sloja epidermisa. Smatraju se najvažnijim strukturnim elementom prirodne zaštitne barijere epiderme. Gubitkom lipida u površinskom sloju kože dolazi do pojačanog ljuštenja korneocita i transepidermalnog gubitka vode. Sposobnost zadržavanja vlage čini ceramide izvrsnim sastojcima u prevenciji starenja. Ceramidi su odgovorni za očuvanje zaštitne barijere epidermisa, koja sprječava taj gubitak vode, pomažući koži da ostane vlažna. Dubinski hidratizirana koža manje je sklona razvoju bora i sitnih linija, a osnažena će koža i lakše regenerirati, sprječavajući prerane znakove starenja (253).

Funkcija stanica u dubljim slojevima kože potpuno ovisi o hidratiziranoj okolini pa je dehidriranoj koži najvažnija obnova hidrolipidne barijere. Najučinkovitija terapija protiv znakova starenja je kombinacija ceramida te kolesterola i masnih kiselina. Topikalnom primjenom ceramida, hidrolipidna se barijera vrlo brzo obnavlja. Ceramidi prenose hranjive tvari u stanice i stvaraju tzv. spremnike vlage u dubljim slojevima kože. U proizvodima za njegu ceramidi se koriste za obnavljanje prirodnih lipida koje je koža izgubila zbog agresivnih vremenskih uvjeta, starenja i korištenja neodgovarajućih krema prema tipu kože lica. Redovitim će korištenjem značajno osnažiti zaštitnu funkciju kožne barijere i smanjiti osjećaj peckanja, suhoće, zatezanja i ljuštenja kože. S obzirom da su ceramidi topljivi u lipidima, u niskim dozama se mogu uklopiti u uljnu fazu kozmetičkog proizvoda. Izazov može predstavljati cijena kozmetičkog proizvoda ukoliko se koriste u visokim koncentracijama (254).

4.11. Metali u kozmetičkim proizvodima

U kozmetičkim pripravcima koristi se nekoliko metala, a to su cink, bakar, selen, stroncij, magnezij i mangan. Koriste se u obliku soli ili u kompleksu s organskim molekulama (255).

Metali imaju specifične uloge u koži. Često su prisutni kao kofaktori u djelovanju metaloenzimaza, a mehanizam djelovanja je različit za različite metale.

Cinkov piriton i selenov sulfid djeluju kao antifungalne tvari i učinkoviti su u djelovanju protiv peruti. Cink je u koži vezan sa superoksid dismutazom i metalotioneinom pa cinkov oksid djeluje kao potencijalni antioksidans tj. služi kao izvor cinka koji je potreban za sintezu takvih proteina (256,257).

Bakar također sudjeluje kao kofaktor mnogih enzima, uključujući lizil oksidazu i prolil hidroksilazu, enzima koji su važni u sintezi kolagena.

Selen je kofaktor enzima glutathion peroksidaze i tioredoksin reduktaze koji djeluju kao antioksidansi u stanici (258).

Cinkov oksid pozitivno djeluje na smirivanje nastalih iritacije kože. Ispitivanje na dijelu podlaktice pokazalo je da cinkov oksid značajno utječe na iritacije kože izazvane onečišćenjima iz okoliša. Kombinacija cinka i niacinamida pokazuje sinergiju u rješavanju niza upalnih promjena na koži.

Lokalna primjena bakar-peptid kompleksa učinkovita je protiv starenja kože.

Selenometionin smanjuje eriteme uzrokovane UV-zračenjem i smanjuje bore na licu (259).

Neki metali i njihovi kompleksi su obojani pa to predstavlja estetski problem ako se primjenjuju u visokim dozama.

4.12. Permeacija aktivne tvari u epidermis i dermis

Učinkovitost topikalno primijenjenih kozmetičkih proizvoda, koji ublažavaju i/ili sprječavaju degenerativne promjene uzrokovane starenjem, ograničena je permeacijom aktivne tvari do mjesta učinka. U osnovi taj se problem ogleda u anatomske građi same kože. Od mjesta primjene pripravka do mjesta učinka, nekoliko je značajnih fizikalno-kemijskih barijera i problema. Najznačajniju barijeru apsorpciji predstavlja vanjski rožnati sloj kože. Čimbenici koji određuju apsorpciju su mjesto primjene (područje kože i površina), integritet rožnatog sloja i debljina epidermisa. Nakon difuzije kroz rožnati sloj, aktivna tvar mora permeirati kroz žive slojeve epidermisa, pri tome minimalno ulazeći u interakciju s keratinocitima i enzimima. Zatim mora prijeći bazalnu membranu, te pod uvjetom da je izbjegao eliminaciju mikrocirkulacijom dermisa, aktivna tvar postaje bioraspoloživa za učinak u dermisu (260). Bioraspoloživost topikalnih kozmetičkih pripravaka određena je svojstvima aktivne tvari, svojstvima podloge te sastavom i svojstvima formulacije. Ključna svojstva aktivne tvari su lipofilnost, veličina i naboj molekule, topljivost u podlozi, te metabolička stabilnost. Formulacijski parametri određeni su vrstom podloge, te vrstom i udjelima pomoćnih tvari u kozmetičkom pripravku. Pomoćne tvari su bitan čimbenik bioraspoloživosti aktivne tvari iz pripravka, zbog njegove izravne primjene na površinu kože, odnosno apsorpcijsku površinu (261,262).

4.13. Apsorpcija aktivne tvari

Pretpostavljaju se dva glavna puta apsorpcije tvari kroz rožnati sloj: naizmjenični transport kroz međustanični lipidni matriks i korneocite, te kontinuirani transport kroz međustanični lipidni matriks. Male lipofilne molekule apsorbiraju se preko međustaničnog lipidnog matriksa, dok se hidrofilne molekule pretežno apsorbiraju transportom preko korneocita. Područja bora pokazuju najviše nepravilnosti i predstavljaju najslabiju barijeru permeaciji hidrofilnih tvari u kožu (263). Aktivni i olakšani transport kroz rožnati sloj se ne odvija dijelom zbog korneociti koji su anuklearni i keratinizirani, stoga ne mogu proizvoditi proteinske strukture odgovorne za aktivni ili olakšani

transport. Smatra se da je glavni mehanizam transporta aktivne tvari kozmetičkog proizvoda kroz rožnati sloj, procesom difuzije.

4.14. Moguće interakcije aktivne tvari

Važna činjenica koja se uzima u obzir pri razmatranju u njezi kože lica i borbi protiv starenja je u sposobnosti apsorpcije različitih aktivnih tvari u kožu i načina na koji se odvija ta interakcija.

Rožnati sloj predstavlja kožnu barijeru i najvažniji je dio epidermisa u razlikovanju tvari koje moraju ostati izvan tijela od onih kojima je dopušten prolaz kroz kožu. Ovaj cilj postiže se jedinstvenim rasporedom dehidriranih stanice korneocita uklopljenih u međustanični lipidni matriks (model opeke-cigle). Bilo kakav poremećaj ravnoteže površinskog sloja epiderme nastao uklanjanjem korneocita ili međustaničnih lipida daje nedostatnu barijeru.

Nakon kontakta s kožom kozmetički proizvod pokazuje lagano isparavanje s površine kože, raspodjela u rožnati sloj je neujednačena, permeaciju u dublje slojeve epidermisa slijedi metabolizam aktivne tvari ili permeacija u dermis, te je moguća nepoželjna apsorpcija u sistemsku cirkulaciju ili vezanje za okolna tkiva.

Tijekom uporabe kozmetičkog pripravka moguće su složene interakcije između aktivne tvari, podloge proizvoda i kože. Te interakcije mogu se javiti istovremeno i svrstati prema mjestu događaja: površina kože, rožnati sloj, živi slojevi epidermisa i dermis.

Na površini kože može doći do promjene topljivosti aktivne tvari (što rezultira taloženjem ili otapanjem), isparavanja tvari, te fizikalno kemijskih promjena formulacije. Aktivne tvari prisutne u formulaciji mogu djelovati neovisno jedna od druge i/ili prisutnost jedne aktivne tvari može utjecati na učinak druge tvari.

Koncentracijski gradijent potreban za difuziju aktivne tvari može biti umanjen zbog kemijskih interakcija s površinom kože, dlakama, sebumom i znojem.

U rožnatom sloju ključne su interakcije pojačivača apsorpcije s lipidnim matriksom epidermisa. Time se poboljšava raspodjela aktivne tvari u dublje slojeve epidermisa.

Poboljšanje bioraspoloživosti aktivne tvari u dermisu ovisi o fizikalno kemijskim svojstvima aktivne tvari i može uključivati: modifikaciju molekule s ciljem poboljšanja lipofilnosti i/ili

stabilnosti, dodatak pospješivača apsorpcije u formulaciju proizvoda, uklapanje aktivne tvari u nosače nanometarskih dimenzija (264).

4.15. Djelotvornost aktivnih tvari kozmetičkih proizvoda

Kozmetički pripravci za sprječavanje i/ili ublažavanje promjena koje se javljaju starenjem moraju ispuniti visoke standarde potrošača a koji uključuju učinkovitost i sigurnost te estetske karakteristike kao što su izgled, miris i osjećaj nakon primjene. Estetske karakteristike su ključne za prihvaćanje pripravka od strane potrošača. Tip i sastav formulacije potrebno je prilagoditi statusu (fotostarenje, kronološko starenje: prvi znakovi starenja, već nastale linije i bore), tipu (masna, suha) kože te posebnostima područja kože (koža lica, područja oko očiju te usnica, vrata). Nanotehnološkim pristupom pri oblikovanju aktivnih tvari razvijaju se inovativni kozmetički pripravci, unaprijeđene učinkovitosti, sigurnosti, stabilnosti, te stoga i komercijalne vrijednosti za potrošača.

Godišnje se troše izuzetno visoki financijski iznosi na kupnju anti-age proizvoda, najčešće su u obliku krema i seruma. Njihova učinkovitost i opravdanost se i dalje ispituje. Ključno za evaluaciju djelotvornosti kozmetičkog proizvoda je razumijevanje kako se testiraju. Aktivnim tvarima se određuje biološka aktivnost i pripadnost aktivne tvari u djelotvornu skupinu npr. antioksidansa. Zlatni standard je provedba dvostruko slijepe kontrolirane studije. Većina proizvođača koristi tzv. otvorene studije.

Novi trend je kombinacija aktivnih sastojaka, npr. hormon rasta i vitamin C i sl. (sinergije nemaju kliničke studije).

Trend prirodne kozmetike, kao sigurnije kozmetike iz sintetski dobivenih sastojaka nije točan, naprotiv, ti sastojci su manje i nedostatnije ispitani. Većina sastojaka dobivenih iz prirode ne mogu se kao takvi inkorporirati u proizvode i oni se kemijski dorađuju. Stoga se naziv prirodni često dovodi u kontekst zavaravanja potrošača.

4.16. Kozmetička industrija status

Kozmetička industrija predstavlja vrlo važnu industrijsku granu zbog svog doprinosa bruto proizvodu na svjetskoj razini, već najvećim dijelom zbog velikog utjecaja na svjetsku populaciju. Područje upotrebe kozmetičkih proizvoda obuhvaća gotovo svakog stanovnika na Zemlji kao potencijalnog korisnika, a proizvodnja kozmetičkih proizvoda je jedna od najstarijih ljudskih aktivnosti.

Posljednjih se godina velika medijska pažnja posvećuje borbi protiv starenja kože lica.. Pretraživanje po ključnim riječima za starenje kože uz pomoć tražilice Google daje više od 1,6 milijuna rezultata, uglavnom vezano za namjenu kozmetičkih proizvoda.

Osim toga, kozmetika i proizvodi za osobnu njegu su najvažnije područje s obzirom na primjenu kemijskih tvari sigurnih za ljudsko zdravlje, stoga je kozmetička industrija primorana u svome poslovanju primijeniti principe ne štetnosti po ljudsko zdravlje, održivog razvoja i zaštite okoliša.

Tehnološki napredak i stalne inovacije glavna su obilježja moderne kozmetičke industrije. Kozmetičke kompanije kontinuirano osmišljavaju i kreiraju nove proizvode ili rade na poboljšanju već postojećih. Stalne inovacije, redizajn proizvoda i poboljšanja postojećih postali su nužni u globalnoj konkurenciji.

Tržišni udio velikih međunarodnih kompanija iznosi nadmoćnih 52,2 %. Unatoč njihovoj prevlasti na tržištu egzistiraju i male kao i srednje velike kozmetičke kompanije. Njihova prednost je veća fleksibilnost i mogućnost osobnijeg pristupa kupcima i njihovim potrebama (270).

Kozmetička industrije spada pod monopolističku konkurenciju. Na tržištu postoji veliki broj konkurenata koji vlastitu konkurentnu prednost nastoje ostvariti kroz diferencijaciju svojih kozmetičkih proizvoda. To superiorno zadovoljavanje potreba korisnika obično je praćeno s višom razinom cijena proizvoda. U kozmetičkoj industriji je taj pristup izražen kod luksuznih kozmetičkih proizvoda, kod proizvoda namijenjenih etničkim skupinama, te u segmentu prirodne kozmetike.

Kozmetičko tržište je, kao i mnoga druga, zasićeno. Veliki dio proizvoda ušao je u fazu zrelosti. Odgovor većine kompanija, odnosno strategija za održavanje stabilnog udjela na tržištu i sprječavanje daljnjeg opadanja profita je snižavanje cijena, te pojačana promocija (271).

Američko tržište predstavlja najveće svjetsko tržište kozmetičkih proizvoda, dok je Francuska najveći izvoznik kozmetičkih proizvoda. Rast tržišta bilježe i ostale regije, odnosno Južna Amerika i Istočna Europa.

Godišnje se izdvajaju izuzetna financijska sredstva za istraživanje i razvoj novih aktivnih tvari protiv starenja kože lica. Taj segment njege je ujedno i najprofitabilniji, najbrže rastući globalne kozmetičke industrije.

Kozmetička industrija je fokusirana na otkrivanje i primjenu novih molekularnih i bioloških strategija. Pomno se prate i nezavisna istraživanja, koja uvelike utječu na pojavu određenih trendove izuzetno kompetitivnog tržišta.

Podaci o patentima aktivnih tvari nam pokazuju neprekidnu potragu za novim i učinkovitijim tvarima za njegu kože. Proučavanjem prijava patenata i analizom dobivenih podataka dobiva se uvid u trendove tržišta njege protiv starenja. Kategorije aktivne tvari za njegu kože protiv starenja svrstane prema djelovanju.

Primjer korelacije broja aktivnih tvari definiranih djelovanja na npr. elastičnost kože može se iz danog prikaza uočiti da 593 prijavljene aktivne tvari imaju zadano djelovanje, a od toga iz skupine peptida su 164 aktivne molekule (265).

Tablica 1. Primjer aktivne tvari s pripadajućim djelovanjem (preuzeto iz (266)).

Djelovanje aktivne tvari	Ukupno	Protuupalno djelovanje	Apsorpcija	Elasticitet	Bioraspoloživost	Hidratacija
Ukupno aktivnih tvari	1095	672	796	593	216	15
Kemijski piling	748	490	538	399	140	4
Alpha Hydroxy Acids	166	98	116	81	36	1
Beta Hydroxy Acids	152	129	123	69	18	
Retinoic Acid Peel	75	47	53	31	9	
Phenol Peels	19	13	14	8	1	
Trichloroacetic Acid Peels	8	5	6	6	2	
Jessner Peel	2	1	1	2		
Peptidi	217	121	164	149	59	1
Copper Peptides	5	4	2	4	2	
Acetyl hexapeptide-3	4	3	4	3		
Peptones	2	1	1	2		
Filteri zaštite od UV	164	101	129	96	18	
Zinc Oxide	63	35	48	38	6	
Titanium Dioxide	63	33	48	37	11	
Oxybenzone	48	31	38	26	4	
Dioxybenzone	43	28	33	24	4	
Sulisobenzon	42	27	32	24	4	
P-Aminobenzoic Acid	29	20	24	14	1	
Bemotrinizol	19	13	17	14	3	
Octyl Salicylate	18	13	14	9		
Octyl Methoxycinnamate	18	12	14	8	1	
Ethylhexyl Triazone	18	9	17	14	3	

4.17. Ključni koraci u razvoju kozmetičkog proizvoda

Proizvod je „konačni rezultat proizvodne djelatnosti koji, za razliku od usluge, postoji i nakon što je dovršen proces njegove proizvodnje, te svojim predmetnim oblikom i svojstvima zadovoljava određenu potrebu“ (267).

Glavna svojstva proizvoda (njegova kvaliteta, prodajna cijena, estetika, suvremenost i pružanje usluga potrošačima) bitno utječu na njegov položaj i uspješnost na tržištu.

Da bi kozmetička kompanija zadovoljila potrebe svojih potrošača, održala prodaju, te bila u koraku sa svojom konkurencijom mora razvijati nove proizvode. Uz odjel za istraživanje i razvoj, marketing ima ključnu ulogu. Samu ideju o proizvodu potrebno je istraživati s marketinškog stajališta, a cijeli tijek razvoja se mora odvijati suradnjom međufunkcionalnih timova.

Jedan od važnijih čimbenika je timski rad između odjela za istraživanje i razvoj (R&D), odjela proizvodnje, nabave sirovina, marketinga i financija.

Uspjeh novih proizvoda veći je kada tvrtka bolje razumije potrebe kupaca, kada je odnos između učinkovitosti i troškova veći, kada se proizvod lansira prije no što to učini konkurencija, kada je veći očekivani prinos te kada je međufunkcionalni timski rad bolje razvijen.

Razvoju novog proizvoda ne pogoduju ni fragmentirana tržišta, nedostatak važnijih ideja za poboljšanje osnovnih proizvoda, društvena i zakonodavna ograničenja, visoki troškovi istraživanja i razvoja (R&D), proizvodni i marketinški troškovi, te kraće vrijeme razvoja i kraći životni vijek proizvoda.

4.17.1. Ishodišna točka razvoja

Potrebe potrošača, zahtjevi tržišta i trendovi koji ih diktiraju ishodišna su točka u razvoju novog kozmetičkog proizvoda.

Određivanje glavne namjene kozmetičkog proizvoda koji zadovoljava sve regulatorne aspekte glavna su smjernica odjelu istraživanja i razvoja pri definiranju izbora nove aktivne tvari ili razvijanju novog tehnološkog procesa formulacije proizvoda.

4.17.2. Izbor sirovina u odabiru funkcije namjene kozmetičkog proizvoda

Nova aktivna tvar treba pružati dodanu vrijednost u razvoju kozmetičkog proizvoda u borbi protiv starenja kože lica.

Početna faza istraživanja u razvoju korisne sirovine naziva se tehnologija procjena. Razvoj nove sirovine treba pokazati novu funkciju primjene za glavnu namjenu naravno uz dokazanu djelotvornost odabrane sirovine. Odabrane aktivne tvari moraju biti u skladu sa globalno prilagođenim zakonima i propisima, jasnog podrijetla. Podrazumijeva se da nema globalnog ograničenja za njihovu daljnju primjenu. Stoga se funkcija svake pojedine sirovine definira EU popisom.

Vrlo često i kozmetičke kompanije patentiraju novu aktivnu tvar sa već poznatim tehnološkim procesom proizvodnje kozmetičkog proizvoda.

Nazivi INCI (engl. International Nomenclature Cosmetic Ingredients) sustavni su nazivi međunarodno priznati za prepoznavanje kozmetičkih sastojaka. Razvio ih je Međunarodni odbor za nomenklaturu (INC), a objavilo ih je Vijeće za proizvode za osobnu njegu (PCPC) u Međunarodnom rječniku i priručniku za kozmetičke sastojke.

PCPC pruža nadzor nad INCI programom uz identifikaciju sastava proizvoda za osobnu njegu i objavu tih podataka u svjetskom znanstveno utemeljenom rječniku. PCPC osigurava da Rječnik pruža svjetskoj zajednici točnu, transparentnu i usklađenu nomenklaturu.

Mnogo je prednosti jednoobraznog sustava (INCI nomenklature) označavanja kozmetičkih sastojaka. Znanstvenoj zajednici osigurana je transparentnost podataka, što pomaže identificiranju uzročnika odgovornih za eventualno nastale nuspojave. Osigurano je da podaci iz znanstvenih publikacija mogu biti upućeni na jednolično ime, kako više naziva istog materijala ne dovede do pogrešne identifikacije ili gubitka bitnih podataka. Također omogućava kozmetičkoj industriji učinkovito praćenje regulatornog statusa aktivne tvari na globalnoj razini u skladu s prisutnim nacionalnim propisima. Potrošačima se pruža transparentnost jer se sastojci identificiraju jednim nazivom označavanja neovisno o nacionalnom podrijetlu proizvoda.

4.17.3. Generiranje ideja

Prva faza razvoja kozmetičkog proizvoda odnosi se na traženje ideja , definiciju proizvoda i tržišta, razradi ciljeva novih proizvoda.

Najveći postotak novonastalih ideja potječe od kupaca, korisnika sličnih proizvoda. Ideje o novim proizvodima stvaraju se i prenose kroz ankete, projektilne (asocijativne) testove, razgovore u fokus grupama, kroz njihove sugestije i primjedbe, te kroz zamolbe kupcima da opišu probleme koje imaju s postojećim proizvodima.

Tehnikom navođenja karakteristika prikazuju se najbolje karakteristike postojećih proizvoda i modificira se svaka karakteristika kako bi se proizvod poboljšao.

Tehnika forsiranih odnosa se temelji na razmatranju nekoliko proizvoda slične namjene, sastava ili tvrdnje s ciljem stvaranja novog proizvoda.

Morfološkom analizom se pokušava stvoriti najnovija kombinacija novog kozmetičkog proizvoda.

Identifikacija potreba/problema, za razliku od ostalih tehnika, uključuje i počinje s potrošačima, uzimajući u obzir njihove potrebe, probleme i ideje. Drugi način upotrebe ove tehnike je da se potrošačima da lista problema te oni razvrstavaju proizvode kojih se sjete i za koje smatraju da imaju probleme.

Brainstorming se koristi za stimuliranje kreativnosti grupe od šest do deset ljudi koji razmatraju specifični problem. Onog trenutka kad grupa dođe blizu dobrog rješenja, opisuje se problem te grupa počinje razjašnjavati rješenje (268).

4.17.3.1. Pregledavanje ideja

Svrha pregledavanja ideja je odbacivanje onih loših jer troškovi razvoja proizvoda bitno rastu sa svakom fazom sukcesivnog razvoja. Ideje se tjedno pregledavaju i dijele prema određenim kriterijima na tri grupe: obećavajuće, marginalne i odbijene ideje. One ideje koje ostanu ponovno se detaljno istražuju, a zatim i rangiraju pomoću metode ponderiranog indeksa.

4.18. Razvoj i testiranje koncepcije

Sljedeća faza je pretvaranje privlačne ideje u koncepciju kozmetičkog proizvoda.

Zadatak je uz pomoć procjene troškova i vremena pripreme, prikazati gdje će se proizvod pozicionirati u odnosu na ostale proizvode iste namijene.

Testiranje koncepcije uključuje testiranje na određenoj grupi ciljnih potrošača i kasnijom analizom dobivenih reakcija potrošača. Pomoću fokus grupa potrošača otkrivaju se primarne želje kupaca. Odjel marketinga predaje ih istraživačkom odjelu kako bi ih realizirali.

Conjoint analiza je metoda izvođenja korisne vrijednosti koju potrošač povezuje s različitim razinama karakteristika proizvoda. Ispitanici moraju rangirati različite hipotetske ponude nastale kombinacijom različitih razina karakteristika ponuđenih proizvoda iste ili slične namjene. Na temelju rezultata određuju se najbolje i najprivlačnije karakteristike novog kozmetičkog proizvoda te se procjenjuje budući vrijednosni udio na tržištu i moguća ostvarena dobit (268).

4.19. Razvoj strategije marketinga

Nakon testiranja koncepcije novog kozmetičkog proizvoda slijedi razvijanje preliminarnog plana strategije marketinga za uvođenje novog proizvoda na tržište koji se sastoji od tri dijela.

Prvi dio obuhvaća procjenu ponašanje ciljnog tržišta potrošača, planirano pozicioniranje proizvoda, prodaju novog proizvoda, ostvarivanje vrijednosnog udjela na tržištu i zadane ciljeve u nekoliko prvih godina.

Drugi dio ukazuje na planiranu cijenu proizvoda, strategiju distribucije i proračun za marketing.

Treći dio plana strategije marketinga čini dugoročna prodaja, profitni ciljevi i potreban način komunikacije tijekom zadanog vremenskog perioda.

Tablica 2. Primjer koncepta razvoja novog proizvoda

kategorija	opis	primjer
Naziv proizvoda	Identitet proizvoda	Dnevna krema, mlijeko nakon sunčanja
Namjena proizvoda	Glavni učinak proizvoda	Emolijens, zaštita od sunčevog zračenja
Glavne aktivne tvari	Lista aktivnih tvari koje je potrebno uklopiti u tehnološki oblik	Hijaluronska kiselina, ekstrakt zelenog čaja, glikolna kiselina
Cijena sirovina	Cijena sirovina: Eur/kg ili Eur/jediničnom pakiranju	2,16 Eur/ kg ili 0,45 Eur/ jediničnom pakiranju
Prezentacija proizvoda	Dizajn i volumen primarnog i sekundarnog pakiranja	15, 50, 150, 200 ml
Pozicioniranje proizvoda	Ciljni korisnik i ciljni tip kože	Muškarci, žene, osjetljiva koža, akne, suha koža
Primjena	Uobičajena primjena proizvoda	Ujutro, navečer, nakon izlaganja sunčevom zračenju
Mjesto primjene	Dio kože ili sluznice	Lice, područje oko očiju, usna šupljina

kategorija	opis	primjer
Pravilna primjena	Način pravilne primjene proizvoda	Umasirati, isprati nakon primjene
Kozmetičke značajke	Subjektivni osjećaj tijekom i nakon primjene	Bogat, mekan, ugodan, osvježavajući, lagan
Organoleptičke značajke	Organoleptičke značajke u primarnom pakiranju i tijekom primjene	Dobro razmaziv, brzo upijajući
	Boja kozmetičkog proizvoda u primarnom pakiranju i tijekom primjene	Mliječno bijela, svijetlo plava, svijetlo žuta
	Miris kozmetičkog proizvoda prije, tijekom i nakon primjene	Svjež, voćni,

4.20. Poslovna analiza

Nakon razvoja koncepcije proizvoda i strategije marketinga, vrednuje se poslovna atraktivnost prijedloga za razvoj novog kozmetičkog proizvoda te se pripremaju projekcije prodaje, troškova i dobiti kako bi se odredilo zadovoljavaju li zadane ciljeve kozmetičke kompanije. U slučaju da zadovoljavaju, koncepcija proizvoda može prijeći na sljedeću fazu razvoja proizvoda.

Odjel za istraživanje i razvoj, proizvodni odjel, odjel marketinga i financijski odjel procjenjuju troškove.

Drugi način je *break-even* analiza ili analiza točke pokrića u kojoj se računa koliko proizvodnih jedinica tvrtka mora prodati da izjednači prihode sa procjenom utrošenih sredstava. Ako je procjena da tvrtka lagano može doći do nulte točke, projekt ulazi u fazu razvoja proizvoda. Najsloženija metoda procjene je analiza rizika koja obuhvaća tri procjene optimističnu, pesimističnu i najvjerojatniju „za svaku nesigurnu varijablu koja utječe na profitabilnost unutar pretpostavljenog marketinškog okružja i uz određenu strategiju marketinga za planirano razdoblje“. Računalni program simulira moguće rezultate i računa vjerojatnost distribucije stope povrata te tako pokazuje raspon mogućih stopa povrata i njihove vjerojatnosti.

4.20.1. Razvoj proizvoda

Ova faza se odvija se u znanstveno istraživačkim odjelima kozmetičkih kompanija a može trajati nekoliko mjeseci pa čak i godina. Kompanija određuje može li se koncepcija proizvoda pretvoriti u tehnološki izvediv i komercijalno isplativ kozmetički proizvod.

Odjel za istraživanje i razvoj stvara jednu ili više fizičkih verzija proizvoda s ciljem da se pronađe prototip proizvoda koji će sadržavati ključne karakteristike opisane u njegovoj koncepciji. Kad je prototip kozmetičkog proizvoda gotov prolazi kroz rigorozne funkcionalne i potrošačke testove (269).

4.20.2. Formulacija kozmetičkog proizvoda

Formuliranje kozmetičkog proizvoda počinje laboratorijskim razvojem, istovremeno usporednim razvojnim fazama, a sve u svrhu ubrzavanja procesa izrade finalne verzije gotovog proizvoda.

Laboratorijski uvjeti osiguravaju probne uzorke prosječne mase od 500g.

Potrebno je osigurati uvjete za povećanu laboratorijsku proizvodnju tzv. "scale-up" koji omogućuju bolji odabir optimalne formulacije pri proizvodnji velikih količina u proizvodnim pogonima.

Prijelaz razvoja proizvoda iz laboratorijskog na proizvodno mjerilo (*scale-up*, proces) uvijek se provodi suradnjom iskusnih proizvodnih tehnologa i odjela kontrole kvalitete, što omogućuje zadovoljavanje strogih zahtjeva kvalitete gotovog proizvoda za svaku proizvodnu šaržu.

4.20.3. Realizacija formulacije

Ponekad je potrebno obaviti stotine laboratorijskih testova treba kako bi se realizirala zahtjevna formulacija. Teoretski, eksperimentiranje je najbolja strategija za postizanje najboljeg omjera sastojaka. Iako je rigorozna i učinkovita, to je vremenski zahtjevna i skupa metoda koju se vrlo rijetko primjenjuje.

U praksi se jedan sastojak formulacije može mijenjati od jednog do drugog testa, bez obzira koja će biti njegova priroda ili koncentracija u formuli. Na ovaj način, utjecaj svakog sastojka formulacije (npr. učinkovitost ili tekstura) će biti poznat.

Nadalje, nespojivosti se naj taj način mogu lako detektirati, kao i sastojci koji imaju tendenciju destabilizacije formule.

Djelotvornost, podnošljivost i osobine kozmetičkih proizvoda određene su ne samo kroz aktivne tvari, već i podlogom koja se koristi. Dokazano je da dobro oblikovana podloga, prilagođena odgovarajućoj koži može imati brojne pozitivne učinke (npr. hidratacija i stabilizacija epidermalne barijere). Nadalje, diferencirani galenski pripravci imaju veliki značaj, budući da djelovanje mnogih aktivnih tvari ovisi o cjelokupnom obliku. Dok, na primjer, petrolatum dozvoljava samo umjerenu penetraciju vitamina E u kožu, mikro ili nanoemulzija vitamina E može značajno povećati penetraciju. Cjelokupan oblik zajedno s interakcijom između podloge, aktivne tvari i kože, utječe na djelotvornost proizvoda kao i na oslobađanje aktivne tvari.

4.20.4. Testiranje tržišta

Nakon što proizvod ispuni kriterije vezane za funkcionalnost i namijenjenu učinkovitost, određuje mu se marka, ambalaža i preliminarni program marketinga.

Cilj je testirati novi proizvod u autentičnijem potrošačkom okruženju, sakupiti podatke o veličini tržišta i reakciji potrošača na korištenje i eventualnu ponovnu kupnju stvarnog proizvoda.

Visokorizični proizvodi moraju se tržišno testirati kao i svi oni koji doprinose stvaranju nove kategorije proizvoda (270).

4.20.5. Komercijalizacija

Komercijalizacija novog proizvoda donosi najveće troškove.

Za komercijalizaciju novog proizvoda potrebno je obratiti pažnju na sljedeće čimbenike:

Kada (*timing*). Tvrtka ima tri izbora: rani ulazak koji joj osigurava prednost prvoga na tržištu, paralelni ulazak; kasni ulazak ili odgađanje lansiranja proizvoda dok konkurent ne lansiraju svoj.

Gdje (geografska strategija). Tvrtka odlučuje hoće li lansirati proizvod na jednoj lokaciji, u određenoj regiji, u nekoliko regija, na nacionalnom tržištu ili možda na međunarodnom tržištu.

Velike kozmetičke kompanije predstavljaju svoj proizvod globalno, stoga je praćenje globalne regulative od primarnog interesa velikih kozmetičkih kompanija.

Kome (potencijalna ciljna tržišta). Najbolja potencijalna tržišta za nove proizvode su rani usvajači i vođe mišljenja.

Kako (tržišna strategija uvođenja). Prilikom raspodjele i koordinacije mnogih aktivnosti koje se tada pojavljuju menadžment koristi tehnike mrežnog planiranja koji obuhvaća glavni prikaz istodobnih i redoslijednih aktivnosti koje se moraju napraviti da bi se proizvod lansirao

Životni vijek proizvoda (ŽVP) važna je koncepcija koja omogućuje uvid u dinamiku konkurentnosti kozmetičkog proizvoda i svojstva koja ga čine korisnim za potrošače.

4.20.6. Ciljevi i strategije u fazi uvođenja novog kozmetičkog proizvoda

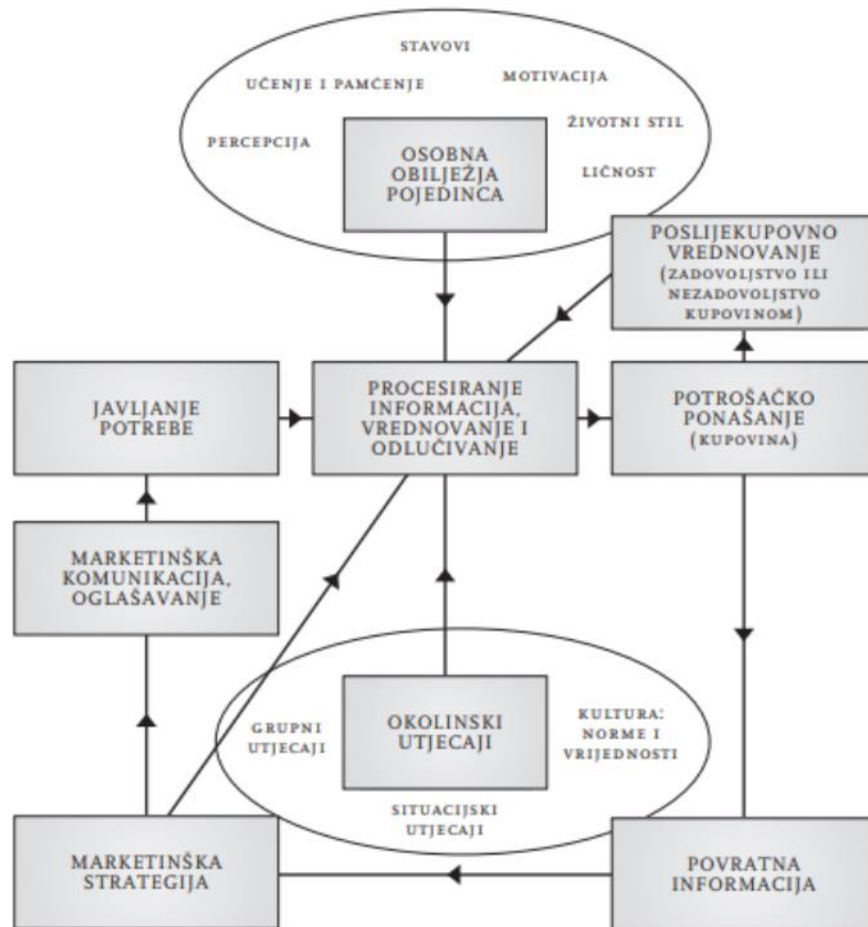
Kod strategije distribucije novog kozmetičkog proizvoda određuje se mjesto dostupnosti za potrošača (ljekarna, parfumerija, dermatološka ordinacija itd.)

Osnovni cilj proizvođača je da u što kraćem vremenu prebrodi opasnosti faze uvođenja novog proizvoda na tržište i što prije započeti proizvodnju. te tržišnu distribuciju.

4.20.7. Ponašanje potrošača i proces usvajanja novog proizvoda

Ponašanje potrošača definira se kao niz psiholoških i fizičkih aktivnosti koje pojedinac poduzima u procesu odabira, kupnje i konzumiranja proizvoda i/ili usluga. Da bi se odredili njegovi motivi i želje potrebno je razumjeti značaj triju uloga u njihovom ponašanju (81).

Uloga kupca kozmetičkog proizvoda je od posebne važnosti u konačnoj ocjeni proizvoda. Svaki kupac prilikom donošenja odluke o kupnji novog proizvoda ima tri raspoloživa resursa vrijeme, novac i sposobnost prihvatanja i procesuiranja informacija o novom proizvodu. Njegovo ponašanje se može podijeliti u tri faze: fazu kupnje u kojoj se razmatraju čimbenici koji utječu na izbor baš tog kozmetičkog proizvoda; fazu konzumiranja proizvoda i korištenje prednosti proizvoda, te fazu odlaganja odnosno odluku potrošača o tome da li je zadovoljan karakteristikama novog proizvoda.



Slika 7. Pojednostavljeni model ponašanja potrošača (preuzeto iz (269)).

Proces prihvatanja kozmetičkog proizvoda od strane potrošača usredotočen je na mentalni proces koji pojedinac prolazi od trenutka kada prvi put čuje za inovaciju u novom proizvodu pa do trenutka kada je usvoji. Postoji pet faza procesa usvajanja kojima se koristi većina kozmetičkih kompanija pri lansiranju novog proizvoda na tržište njege kože: svjesnost-potrošač postaje svjestan inovacije, ali nema potpunu informacije; interes-potrošač je stimuliran potražiti informacije o inovaciji;

evaluacija-potrošač razmišlja o mogućnosti isprobavanja inovacije; proba-potrošač isprobava inovaciju kako bi poboljšao procjenu njezine vrijednosti i usvajanje-potrošač odlučuje da u potpunosti koristi inovaciju u svakodnevnoj njezi (82).

4.21. Uspješna strategija razvoja kozmetičkog proizvoda

Čini se da zbunjujuće i često proturječne globalne regulatorne definicije i zahtjevi mogu postati prava marketinška noćna mora, naročito u vrijeme kada industrija razvoja proizvoda za njegu kože u borbi protiv starenja uživa u dosad nezabilježenoj slobodi pristupa novim tehnologijama i egzotičnim sastojcima, koji mogu pomoći u razvoju boljih proizvoda protiv starenja (271).

U našem strogo reguliranom i međusobno povezanom suvremenom svijetu nijedna kompanija ne može mjeriti svoj uspjeh samo na temelju sposobnosti da predstavi znanstveno najnapredniju formulu s mjerljivim i učinkovitim koristima u njezi kože.

Najveći izazov s kojim se kozmetička industrija danas suočava je pitanje ravnoteže između: što navesti u tvrdnjama s ciljem ostvarivanja prednosti na tržištu; što se može reći, a da to sa znanstvenog gledišta bude istinito; što će potrošači smatrati uvjerljivim; što konkurenti tvrde o svojim proizvodima, i što se smije reći u skladu s propisima.

4.21.1. Strategija odabira sastojaka za proizvode protiv starenja kože lica - Temeljno načelo razvoja proizvoda

Već dugo se zna da topikalna primjena blokatora UV zračenja predstavlja najbolju praksu što se tiče fotozaštite. Dokazano je da antioksidansi za topikalnu primjenu u odgovarajućem obliku, poput vitamina C i E, samostalno ili u sinergijskoj kombinaciji, mogu osigurati zaštitu od oštećenja izazvanih UV zračenjem. Tretinoin (sve-trans-retinoična kiselina, derivat molekule vitamina A) je prvi dermatološki tretman za fotooštećenja uzrokovana ekstrinzičnim starenjem što ga je odobrila FDA. Provedena su brojna multicentrična, dvostruko slijepa ispitivanja njegove učinkovitosti u borbi protiv starenja ljudske kože. Istraživanja su pokazala da može osigurati znatna poboljšanja nakon četiri do šest mjeseci svakodnevne upotrebe. Dokazi iz višegodišnjih *in vitro* studija, ispitivanja na koži životinja i kliničkih studija pokazuju da također učinkovito djeluje protiv znakova intrinzičnog starenja, poput sitnih linija i bora, tako što potiče sintezu kolagena i ubrzava obnovu stanica kože (262).

Međutim, pažljiv pregled najnovijih obavljenih podataka također upućuje na zaključak da je stvarna učinkovitost kozmetičkog proizvoda borbe protiv znakova starenja kože lica, kad je riječ o mjerljivom kliničkom poboljšanju koje se također može vidjeti golim okom, još uvijek vrlo neizvjesna, iako neki od tih sastojaka stvarno posjeduju svojstva koja bi u teoriji mogla osigurati dermatološke koristi.

No, čini se da su upravo antioksidansi, poput vitamina, minerala, ekstrakta biljaka, odabrani kao sastojci budućnosti. Što se tiče glavnih budućih trendova, i dalje će prevladavati naglasak na sprečavanju preuranjenog starenja, poput tretmana i proizvoda za njegu kože lica koji su namijenjeni za depigmentaciju i posvjetljivanje kože (tena) te zaglađivanje bora i sitnih linija. Kozmetičke kompanije koje se bave razvojem novih proizvoda danas mogu birati sastojke s dugog popisa bioaktivnih i multifunkcionalnih tvari poput peptida, antioksidansa, hvatača slobodnih radikala i alfa-hidroksi kiselina.

Mnogi su sastojci uspješno prošli prva *in vitro* ispitivanja ili ograničena preliminarna ispitivanja na ljudima, ali još se moraju provesti opsežne, strogo kontrolirane znanstvene studije koje tek trebaju dokazati početne rezultate. U vrijeme kada kozmetički kirurški zahvati postaju sve prihvaćeniji u široj javnosti, pojavljuju se i drugi futuristički sastojci za najprodavanije kozmetičke proizvode sutrašnjice, bilo kao samostalni proizvodi ili pak pripravci za primjenu nakon zahvata.

Temeljno načelo razvoja kozmetičkih proizvoda ostaje nepromijenjeno i u današnjoj utrci za profitom: biti odgovorni, strogo se pridržavati znanstvenih načela, proizvoditi kvalitetne i sigurne proizvode, štititi sigurnost potrošača.

4.21.2. Naglasak na bezbrižnosti potrošača

Potrošači su neprekidno izloženi informacijama o proizvodima.

Aktivizam nevladinih organizacija u zajednici i javne kampanje za edukaciju potrošača dodatno pojačavaju tu eksploziju informacija.

Znanstvene činjenice i laboratorijska otkrića ponekad se vade iz konteksta te stvara lažan, negativan dojam o sigurnosti proizvoda.

U središtu pažnje je pitanje okrutnosti prema životinjama tijekom znanstvenih istraživanja, koju žele smanjiti ili pak u potpunosti izbjeći. Njihove aktivnosti rezultirale su golemom podrškom zabrani ispitivanja kozmetičkih proizvoda na životinjama diljem svijeta. Dopunama Direktive o

kozmetičkih proizvodima službeno se uvodi zabrana ispitivanja na životinjama za države članice EU.

Međutim, to ne znači da proizvođači ne moraju provoditi ispitivanja sigurnosti. Obvezni su zajamčiti sigurnost proizvoda primjenom drugih vrsta ispitivanja. Važno pitanje odnosi se na raspravu o kontroverznim sastojcima za koje je znanstveno dokazano da su štetni ili koje potrošači drže štetnima. Na tom su popisu razni konzervansi poput formaldehida, navodnih endokrinih disruptora poput parabena i tvari koje se navode kao karcinogeni, mutageni ili reproduktivni toksini, te perzistentni i bioakumulativni toksini.

4.21.3. Zajamčena sigurnost kozmetičkog proizvoda

Temeljita i dobro osmišljena kontrola sigurnosti kozmetičkog proizvoda u njezi protiv starenja od ključne je važnosti za poštivanje temeljnog načela razvoja proizvoda. Zahvaljujući regulativnim načelima, kozmetička industrija nudi sigurne kozmetičke proizvode za potrošače. Postoje brojni alati koji su korisni za odabir sigurnih sastojaka prilikom razvoja formulacija proizvoda. Jedan od najpoznatijih alata za razvoj formulacija sigurnih proizvoda svakako je postupak kontrole aktivnih tvari u kozmetičkim proizvodima.

Vijeće sastavljeno od stručnjaka s područja odgovarajućih grana znanosti provodi spomenuti postupak ocjene sigurnosti kozmetičkih sastojaka. Međutim, brzina razvoja novih sastojaka daleko premašuje brzinu provedbe postupaka vijeća. Uz korisnu bazu podataka, proizvođači koji se bave razvojem novih formulacija morat će koristiti i druge dostupne resurse.

Međunarodna kozmetička pravna i regulatorna baza podataka (CFTA) pruža informacija o globalnoj regulativi za različite aktivne tvari. Sadrži bazu podataka o sastojcima s opsežnim popisom relevantnih i uvijek ažurnih sigurnosnih i regulatornih ocjena, uključujući najnoviji status ocjene aktivne tvari, te globalni sigurnosni status aktivne tvari podrazumijeva provjeru popisa tvari sa zabranom ili ograničenjem primjene. Tu su i sažeti prikazi sigurnosnog statusa prema propisima o zaštiti zdravlja na radu i zaštiti okoliša.

Također je važno pribaviti dugoročne toksikološke i ekološke profile, koji su često dostupni tek nakon višegodišnje javne uporabe i praćenja aktivne tvari. Sigurnost je trajni cilj ali uz veliki oprez ne postoji jedinstvena baza podataka koja će obuhvatiti sve potrebne informacije. Prema tome,

redovitim praćenjem stručne literature, sudjelovanjem na znanstvenim konferencijama, te trajnom edukacijom dane problematike može se dobiti kvalitetniji pristup najnovijim spoznajama (273).

4.22. Zakonska regulativa kozmetičkih proizvoda u zemljama EU

Na razini Europske unije na snazi je zajednički kriterij opravdanja tvrdnji koje se koriste na kozmetičkim proizvodima. Glavni cilj je osigurati visoku razinu zaštite krajnjih korisnika od neutemeljenih tvrdnji. Stoga je zabranjeno reklamirati kozmetičke proizvode na način koji bi potrošače mogao dovesti u zabludu glede stvarnog sastava, svojstava i namjene.

U ovom poglavlju rezimirati će se osnove regulative preuzete iz Uredbe EZ, koje se odnose također na Republiku Hrvatsku.

Europska komisija je objavila niz smjernica određivanje namjene i vodiča za kozmetičke proizvode koji potpadaju pod definiciju iz članka 2. Uredbe 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima.

Uredba (EZ) br. 1223/2009 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima (273).

Tvrdnje na kozmetičkim proizvodima su ključne za razlikovanje kozmetičkih proizvoda, te pridonose i potiču inovativnost i tržišnu konkurentnost. Važno je osigurati da su tvrdnje korisne, razumljive i pouzdane i da omogućuju pravilan odabir kozmetičkog proizvoda koji najbolje odgovara potrebi i očekivanjima korisnika.

Europska udruga proizvođača kozmetike izradila je Smjernice o odgovornom oglašavanju i marketinškoj komunikaciji kozmetičkih proizvoda.

4.23. Deklariranje kozmetičkih proizvoda

Kozmetički proizvodi stavljaju se na tržište ako se na vanjskom pakiranju i/ili ambalaži nalaze sljedeći podaci ispisani neizbrisivim, jasno čitljivim i vidljivim slovima:

- a) ime ili registrirano ime i adresa odgovorne osobe. Te je podatke moguće skratiti ako to skraćenje omogućava identifikaciju te osobe i njezine adrese. Ako je navedeno nekoliko adresa, potrebno je istaknuti onu adresu na kojoj odgovorna osoba ima izravno dostupnu dokumentaciju s podacima o proizvodu. Za uvezene kozmetičke proizvode potrebno je navesti i državu podrijetla.
- b) nominalni sadržaj u trenutku pakiranja (naveden u obliku mase ili obujma), osim u slučaju ambalaže koja sadrži manje od pet grama ili pet mililitara, besplatnih uzoraka i pakiranja za jednokratnu uporabu; za prodaju kao komplet proizvoda, a za koje podaci o masi ili obujmu nisu bitni, nije potrebno navesti sadržaj pod uvjetom da je na ambalaži naznačen

broj proizvoda. Te podatke nije potrebno navesti ako je broj proizvoda lako vidljiv izvana ili ako se proizvod obično prodaje samo pojedinačno;

- c) datum do kojeg će kozmetički proizvod u odgovarajućim uvjetima skladištenja zadržati svoju prvotnu funkciju te će posebno ostati sukladan članku 3. („najkraći rok trajanja”) Uredbe 1223/2009. Prije samog datuma ili podataka o tome gdje se on nalazi na ambalaži mora biti naveden simbol iz točke 3. Priloga VII. Uredbe 1223/2009 ili riječi: „najbolje upotrijebiti prije kraja”. Najkraći rok trajanja mora biti jasno naznačen i sastavljen je od mjeseca i godine ili dana, mjeseca i godine, tim redom. Po potrebi se taj podatak dopunjava uvjetima koje je potrebno ispuniti kako bi se moglo zajamčiti navedeno trajanje.
- d) posebne mjere opreza koje je potrebno poštovati prilikom uporabe, te barem one iz priloga III. do VI. Uredbe 1223/2009 i bilo koja upozorenja o kozmetičkim proizvodima za profesionalnu uporabu;
- e) serijski broj proizvodnje ili referentni broj za identifikaciju kozmetičkog proizvoda. Ako to nije moguće iz praktičnih razloga budući da su kozmetički proizvodi premali, ti se podaci moraju navesti na ambalaži;
- f) funkcija kozmetičkog proizvoda, osim ako to nije jasno iz njegova izgleda;
- g) popis sastojaka. Ovaj se podatak može navesti samo na ambalaži. Ispred popisa mora stajati izraz: „sastojci”. Sastojci se navode u INCI nazivlju, Međunarodnom nazivlju sastojaka kozmetičkih proizvoda. Popis sastojaka navodi se silaznim redoslijedom s obzirom na njihovu masu u vrijeme kada su dodani kozmetičkom proizvodu. Sastojci u koncentracijama manjim od 1 % mogu se navesti bilo kojim redoslijedom nakon sastojaka u koncentracijama većim od 1 %.

4.23.1. Nanomaterijali

Svi sastojci prisutni u obliku nanomaterijala moraju biti jasno naznačeni na popisu sastojaka. Nakon imena tih sastojaka u zagradi mora slijediti riječ „nano”.

Uredba 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima definira pojam „nanomaterijal“ kao netopljiv ili biološki postojan i namjenski proizveden materijal s jednom ili više vanjskih dimenzija, ili s unutarnjom strukturom od 1 do 100 nm.

Europska komisija je izdala Odluku o definiciji nanomaterijala, koja postavlja graničnu vrijednost 50% ili više čestica, ovisno o broju.

Nanomaterijali u kozmetičkim proizvodima mogu se koristiti kao bojila, konzervansi i UV filteri.

4.23.2. Konzervansi

Konzervansi su tvari koje su isključivo ili prvenstveno namijenjene sprečavanju razvoja mikroorganizama u kozmetičkom proizvodu. Konzervansi štite proizvode od kontaminacije s mikroorganizmima (npr. bakterije, gljivice, plijesni) i mogu produljiti rok trajanja kozmetičkih proizvoda.

Kozmetički proizvodi mogu sadržavati samo konzervanse navedene u Prilogu V. Uredbe 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima.

4.24. Dokumentacija s podacima o kozmetičkom proizvodu

Dokumentacija s podacima o kozmetičkom proizvodu mora sadržavati sljedeće informacije i podatke:

1. Opis kozmetičkog proizvoda koji omogućuje da se dokumentacija s podacima o proizvodu jasno poveže s kozmetičkim proizvodom
2. Izvješće o sigurnosti kozmetičkog proizvoda
3. Opis proizvodne metode i izjavu o sukladnosti s dobrom proizvodnom praksom
4. Ako je to opravdano zbog prirode ili učinka kozmetičkog proizvoda, dokaz o učinku za koji se tvrdi da ga posjeduje kozmetički proizvod
5. Podatke o bilo kakvim ispitivanjima na životinjama koje su izvršili proizvođač, njegovi zastupnici ili dobavljači u vezi s razvojem ili procjenom sigurnosti kozmetičkog proizvoda ili njegovih sastojaka, uključujući bilo koje ispitivanje na životinjama izvršeno kako bi se ispunili zakonski ili regulatorni zahtjevi trećih zemalja. Dokumentaciju s podacima o proizvodu odgovorna osoba čuva deset godina od datuma kada je posljednja serija kozmetičkog proizvoda stavljena na tržište.

4.25. Proizvodnja kozmetičkih proizvoda

Proizvodnja kozmetičkih proizvoda u Republici Hrvatskoj uređena je Zakonom o predmetima opće uporabe („Narodne novine“, br. 39/13, 47/14) i Pravilnikom o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe („Narodne novine“, br. 80/18).

Provođenje odredbi iz Zakona i Pravilnika obvezno je za sve proizvođače kozmetičkih proizvoda u Republici Hrvatskoj. Prema definiciji iz Zakona proizvodnjom se smatra priprema, obrada, prerada, dorada i pakiranje te čuvanje kod proizvođača kozmetičkih proizvoda.

Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe („Narodne novine“, br. 80/18) navodi sve posebne uvjete koje prostor u kojemu se odvija proizvodnja kozmetičkih proizvoda mora ispunjavati.

Svaki proizvođač koji po definiciji proizvodnje kozmetičkih proizvoda spada u tu kategoriju dužan je Ministarstvu zdravstva, sukladno članku 21. navedenog Pravilnika, prijaviti djelatnost proizvodnje.

Osim što prostor mora udovoljavati propisanim posebnim uvjetima, isto tako, proizvođač kozmetičkih proizvoda mora ispunjavati uvjete iz Hrvatske norme o smjernicama za dobru proizvođačku praksu iz područja kozmetike, odnosno proizvodnja kozmetičkih proizvoda mora biti u skladu s načelima dobre proizvođačke prakse (eng. *Good Manufacturing Practice*, GMP).

4.26. Procjena sigurnosti kozmetičkog proizvoda

Prije stavljanja kozmetičkog proizvoda na tržište odgovorna osoba osigurava da je kozmetički proizvod podvrgnut procjeni sigurnosti te da je izvješće o sigurnosti kozmetičkog proizvoda sastavljeno u skladu s Uredbom 1223/2009.

Izvješće o sigurnosti kozmetičkog proizvoda sastoji se od:

- Dio A – podaci o sigurnosti kozmetičkog proizvoda (kvantitativni i kvalitativni sastav kozmetičkog proizvoda, fizikalno-kemijska svojstva i stabilnost kozmetičkog proizvoda, mikrobiološka kakvoća, nečistoće, tragovi, podaci o ambalažnom materijalu, uobičajeni i razumno predvidljivi uvjeti uporabe, izloženost kozmetičkom proizvodu, izloženost tvarima, toksikološki profil tvari, neželjeni učinci i ozbiljni neželjeni učinci, podaci o kozmetičkom proizvodu);
- Dio B – Ocjena sigurnosti kozmetičkog proizvoda (zaključak ocjene, navođenje upozorenja i uputa za uporabu, obrazloženje, vjerodostojnost ocjenjivača i odobrenje dijela B).

Europska komisija je donijela i smjernice korisne za male i srednje proizvođače, kako bi ispunili uvjete za izradu izvješća o sigurnosti kozmetičkih proizvoda

Pri stavljanju proizvoda na tržište EU, neophodna je izrada dokumentacije s podacima o proizvodu, a sastavni dio dokumentacije je Izvješće o procijenjenoj sigurnosti.

4.27. Analiza zdravstvene ispravnosti proizvoda

Prilikom stavljanja proizvoda na tržište, neophodna je analiza zdravstvene ispravnosti proizvoda, što najčešće podrazumijeva ispitivanje: organoleptičkih karakteristika proizvoda, mikrobiološke kakvoće proizvoda, pH vrijednosti, te peroksidnog broja, udjela teških metala, potencijalnih nečistoća koje mogu biti prisutne u proizvodu iz sirovina i/ili ambalaže (parametri ispitivanja ovise o vrsti sirovina i ambalaži u kojoj se nalazi proizvod).

4.28. Ispitivanje učinkovitosti konzerviranja

Za formulacije s visokim udjelom vodene faze, odnosno za formulacije koje su pogodne za razvoj mikroorganizama, neophodno je provesti testove učinkovitosti konzerviranja, kojima se može utvrditi je li proizvod pogodan ili otporan za razvoj mikroorganizama. Osim toga, može se utvrditi u kojoj je mjeri korišteni konzervans učinkovit u suzbijanju rasta pojedinih mikroorganizama. Ova analiza od iznimne je važnosti kada se odlučuje o vrsti ambalaže za kozmetički proizvod.

4.29. Provođenje testova stabilnosti

Prije stavljanja kozmetičkog proizvoda na tržište, potrebno je provesti opsežna ispitivanja stabilnosti kozmetičkog proizvoda kako bi se utvrdilo da li će proizvod biti stabilan u predviđenom roku trajanja pri normalnim uvjetima korištenja, skladištenja i transporta.

Između ostalih testova koji se provode (utjecaj temperaturnog smrzavanja, vibracija pri transportu, kompatibilnosti s ambalažom, UV zračenja, itd.), provodi se i test u realnom vremenu kako bi se utvrdila stabilnost proizvoda. Tako npr. ukoliko je predviđeni rok trajanja godinu dana, proizvod se prati u vremenskom razdoblju od godine dana na parametre koji se procjene relevantnim, a obzirom na karakteristike proizvoda.

Kada se s proizvodom želi izaći na tržište u što kraćem vremenskom roku, moguće je predvidjeti rok valjanosti proizvoda ubrzanim testovima stabilnosti pri čemu se proizvod izlaže ekstremnim uvjetima, ovisno o geografskom području gdje se proizvod planira prodavati, kao i o samim karakteristikama proizvoda (npr. za predviđeni rok trajanja od 2 godine, ispitivanje se provodi 3 mjeseca).

4.30. Klinička ispitivanja proizvoda i dokazivanje kozmetičkih tvrdnji

Ovisno o tvrdnjama kozmetičkog proizvoda u njezi protiv starenja, moguće je provoditi različite testove kako bi se iste i dokazale. Ukoliko se komunicira da je proizvod bez alergena i da je dermatološki testiran, potrebno je provesti analizu na sve poznate alergene koji se mogu očekivati u proizvodu, te dermatološke testove podnošljivosti. Nadalje, ukoliko se tvrdi da proizvod ima faktor zaštite od sunca, tada je to odgovarajućim testiranjima potrebno i dokazati.

Moguće je i provođenje slijedećih testova za dokazivanje učinkovitosti kozmetičkog proizvoda njege protiv starenja: mjerenje biokemijskih parametara kao čvrstoće i elastičnosti, razine hidratacije, dubinu bora, luminoznosti, te intenziteta pigmentacije kože prije i poslije korištenja proizvoda, te ispitivanje zadovoljstva korisnika.

4.31. Odgovorna osoba za kozmetički proizvod

Na tržište se smiju stavljati samo oni kozmetički proizvodi za koje je pravna ili fizička osoba u Europskoj uniji imenovana „odgovornom osobom”.

4.32. Dobra proizvođačka praksa

Proizvodnja kozmetičkih proizvoda mora biti u skladu s načelima dobre proizvođačke prakse (GMP). U Službenom listu Europske unije objavljena je obavijest Komisije u okviru provedbe Uredbe 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima gdje je objavljen naslov i referenca na harmoniziranu normu EN ISO 22716: 2007, koja propisuje smjernice za proizvodnju, upravljanje, kontrolu, skladištenje i distribuciju kozmetičkih proizvoda.

4.33. Prijava ozbiljnih neželjenih učinaka kozmetičkih proizvoda (kozmetovigilancija)

Uredba 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima stvorila je uniformirani pristup upravljanju ozbiljnim neželjenim učincima koji nastaju uporabom kozmetičkih proizvoda (engl. *serious undesirable effects*, SUE).

Neželjeni učinak je štetno djelovanje na zdravlje ljudi čiji uzrok može biti uobičajena ili razumno predvidljiva uporaba kozmetičkog proizvoda.

Ozbiljni neželjeni učinak je neželjeni učinak čija su posljedica: privremena ili trajna funkcionalna nesposobnost, invaliditet, hospitalizacija, prirođeni poremećaj, izravna životna opasnost ili smrt.

Uredba 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima navodi kako u slučaju ozbiljnih neželjenih učinaka, odgovorna osoba (proizvođač ili uvoznik) i distributeri bez odgode obavješćuju nadležno

tijelo države članice u kojoj je došlo do pojave tog ozbiljnog neželjenog učinka. Ozbiljne neželjene učinke mogu prijaviti i krajnji korisnici (potrošači) ili zdravstveni djelatnici.

Kako bi se olakšala prijava o ozbiljnim neželjenim učincima kozmetičkih proizvoda, Europska komisija je izradila Smjernice za izvještavanje o ozbiljnim neželjenim učincima koji nastaju uporabom kozmetičkih proizvoda.

4.34. Granični proizvodi

Ponekad je nejasno da li određeni proizvod, a sukladno svojem obilježju i funkciji, može biti kategoriziran kao kozmetički proizvod prema propisima koji reguliraju kozmetičke proizvode ili spada u druge sektorske propise.

Europska komisija objavila određene smjernice kako bi se olakšala primjena zakonodavstva EU, a koji uključuju Vodiče o opsegu primjene Uredbe 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima i Vodiče između legislative kozmetičkih proizvoda i biocida te lijekova, a koji nisu pravno obvezujući nego služe za pomoć pri kategorizaciji proizvoda.

4.35. Međunarodni regulatorni aspekti za uporabu kozmetičkih proizvoda

Sve veća popularnost proizvoda protiv starenja kože otvara niz regulatornih pitanja kojima su proizvođači izloženi. Naglasak je na sve većoj odgovornost proizvođača koji moraju zajamčiti sigurnost proizvoda za predviđenu namjenu i potkrijepiti tvrdnje o proizvodu na odgovarajući način.

Ovo poglavlje donosi pregled regulatornih sustava na području kozmetike u Sjedinjenim Američkim Državama, Japanu i Južnoj Koreji, te prikaz regulatornog stanja i tumačenja dozvoljenih tvrdnji njihove učinkovitosti (272).

4.36. SAD

Kozmetičke proizvode u SAD-u regulira Agencija za hranu i lijekove (FDA) u skladu sa saveznim Zakonom o hrani, lijekovima i kozmetičkim proizvodima (FDCA) i Zakonom o poštenom pakiranju i označavanju (FPLA).

FDA ne zahtijeva odobrenje prije stavljanja na tržište za kozmetičke proizvode. Registracija i informacija o sastojcima, iako se očekuje, je dio programa dobrovoljne registracije kozmetičkih proizvoda.

Naime, agencija (FDA) nema ovlasti zahtijevati od proizvođača provedbu ispitivanja sigurnosti kozmetičkih proizvoda. Međutim, ipak snažno potiče proizvođače na provjeru sigurnosti. Ako sigurnost proizvoda nije potkrijepljena na odgovarajući način, FDA zahtijeva da se na proizvodu istakne upozorenje.

FDA obavještava kozmetičke kompanije o svim prijavljenim neželjenim pojavama, bolestima ili ozljedama vezano za korištenje njihovih proizvoda.

Kozmetički proizvodi podliježu dodatnim propisima koji reguliraju proizvode široke potrošnje, Prema tomu, pitanja koja se odnose na proizvode protiv starenja kože lica u okvirima regulatornog sustava SAD-a mogu biti vrlo složena i mogu uključivati više regulatornih agencija.

Kozmetički proizvodi protiv starenja kože mogu biti obuhvaćeni samo jednom ili više definicija, što ne ovisi o njihovom sastavu već o predviđenoj namjeni proizvoda, koju je utvrdio proizvođač kozmetičkog proizvoda.

Točnije, proizvod za koji se tvrdi da mijenja samo izgled kože, ali ne i njezinu strukturu i funkciju, smatrat će se kozmetičkim proizvodom,

Dakle, s praktičnog gledišta i pod pretpostavkom da je sigurnost proizvoda potkrijepljena dokazima, proizvođači pripravaka protiv starenja kože naći će se u dilemi ukoliko proizvod namjeravaju predstaviti kao kozmetički proizvod, ne smiju iznositi tvrdnje o djelatnim aktivnim tvarima koje mogu prodrijeti u kožu lica.

Glavna misija FDA je osigurati sigurnost i pravilno označavanje kozmetičkih proizvoda (radi razlikovanja lijekova i kozmetičkih proizvoda). Njezine regulatorne ovlasti proizlaze iz Zakona o hrani, lijekovima i kozmetičkim proizvodima, ali i Zakona o poštenom pakiranju i označavanju. Kako kozmetički proizvodi sve češće preuzimaju ulogu lijekova (tj. kozmeceutske tvrdnje koje se odnose na učinak proizvoda protiv starenja), sve je više onih koji traže da FDA strože regulira kozmetičke proizvode u cilju zaštite potrošača od proizvoda koji nisu sigurni i/ili nisu ispitani, ali i od prijevarnih praksi. Tu konfuznu situaciju dodatno pogoršavaju sve raširenije tvrdnje o „organskim“ i/ili „prirodnim“ proizvodima, premda ti pojmovi nisu jasno definirani u regulativi, a ne postoji ni posebno imenovano ili kolaborativno nadležno tijelo zaduženo za nadzor regulacije proizvoda.

Općenito gledano, nije vjerojatno da će kozmetički proizvodi uzrokovati ozbiljne štetne učinke, a pokazalo se da su relativno sigurniji od hrane, lijekova i medicinskih proizvoda. Kozmetička industrija stoga se nije morala suočiti sa strožim FDA-inim postupcima za prisilnu provedbu propisa protiv pretjeranih tvrdnji o proizvodima protiv starenja.

FDA snosi teret dokazivanja. Ako namjerava proglasiti neki kozmetički proizvod patvorenim i zatim ga povući sa tržišta, najprije mora sudskim putem dokazati da bi proizvod mogao biti škodljiv za korisnike.

4.37. Japan

Japanski regulatorni sustav jedinstven je po tome što kategorizacija za namjenu kozmetičkog proizvoda njege protiv starenja ostavlja znatnu slobodu regulatoru, pri čemu sigurnost za potrošača ima presudnu ulogu.

Za kozmetičke proizvode koji su u skladu s važećim propisima nije potrebno pribaviti odobrenje prije stavljanja na tržište. Proizvođači smiju iznositi jednu ili više tvrdnji s popisa od pedeset

posebno navedenih kozmetičkih tvrdnji. Tvrdnje o proizvodima za njegu kože općenito su ograničene u definiranju učinkovitosti.

Ukoliko proizvođači iznose druge tvrdnje, izvan dozvoljenih, takav proizvod koji se stavlja na japansko tržište morat će imati odobrenje japanske regulatorne agencije.

4.38. Južna Koreja

Južna Koreja se prepoznaje kao lider 21. stoljeća u stvaranju trendova njege lica i borbe protiv starenja kože. Globalno je poznata i pod nazivom *K-Beauty*.

Kao jedna od najrazvijenijih zemalja na svijetu, Južna Koreja bilježi ogroman industrijski i tehnološki rast u svim gospodarskim sektorima, a zahvaljujući korištenju visoke tehnologije i ulaganjima u istraživanja i razvoj, korejska kozmetička industrija velikom brzinom osvaja jedno od liderskih mjesta u svijetu kozmetike.

Sofisticirane se tehnologije primjenjuju u svakom koraku proizvodnje kozmetičkih proizvoda, od ekstrakcije sastojaka do formulacije proizvoda. Korejski proizvođači u iznimno kratkom roku na tržište lansiraju velik broj novih proizvoda. Tako se gotovo svakodnevno pronalazi kombinacije sastojaka, bolje od onih prethodnih, kojima je moguće riješiti gotovo sve znakove starenja i probleme kože. Kvalitetni sastojci u visokim koncentracijama postaju dostupni po vrlo prihvatljivim cijenama. Time je K-Beauty postao inspiracija najvećim globalnim kozmetičkim kompanijama,

Zakon o kozmetičkim proizvodima sadrži i definiciju funkcionalnih kozmetičkih proizvoda kao proizvoda koji odgovaraju spomenutoj definiciji kozmetičkih proizvoda i također spadaju u jednu od sljedećih kategorija te su kao takvi navedeni u Uredbi Ministarstva zdravstva Južne Koreje : (a) kozmetički proizvodi namijenjeni za izbjeljivanje kože; (b) kozmetički proizvodi namijenjeni za zaglađivanje bora na koži; (c) kozmetički proizvodi namijenjeni za zaštitu kože od sunčeva UV zračenja ili za dobivanje prirodnog izgleda potamnjele kože.

Takvi funkcionalni kozmetički proizvodi podliježu strožim kontrolama i ne mogu biti stavljeni na južnokorejsko tržište prije nego što prođu postupak registracije i dobivanja odobrenja prije stavljanja na tržište, koji se odnosi na sastojke, ali i na tvrdnje.

4.39. Zahtjevi koji moraju biti ispunjeni prije stavljanja na tržište kozmetičkog proizvoda njege protiv starenja

Globalni zakonodavni trendovi na području kozmetike danas se usredotočuju na nadzor na tržištu umjesto na odobrenja prije stavljanja proizvoda na tržište.

Opseg informacija koje se dostavljaju u obavijesti prije stavljanja na tržište, ako je obvezna, također je znatno smanjen.

4.40. Budući trendovi u regulaciji kozmetičkih proizvoda

4.40.1. Nevladine organizacije

Svjetska banka u svojoj je direktivi definirala nevladine organizacije kao „privatne organizacije koje se bave aktivnostima u cilju ublažavanja patnje, promicanja interesa siromašnih, zaštite okoliša, pružanja osnovnih usluga socijalne skrbi ili razvojem zajednice.“

Iako ne postoje potpuni podaci o broju takvih organizacija u sadašnjem trenutku, prema izvješću UN-a o globalnom upravljanju procjenjuje se da postoji gotovo 30,000 međunarodnih nevladinih organizacija, a njihov broj i dalje raste.

Po definiciji, države ne osnivaju i ne financiraju nevladine organizacije koje nisu dio vlasti.

Iako nisu ograničene zakonskim odredbama, obično su neprofitne i posvećene društvenim, gospodarskim, ekološkim i kulturnim pitanjima. Altruizam i dobrovoljnost su dva ključna načela na kojima se temelji djelovanje nevladinih organizacija.

Nevladine organizacije možemo podijeliti na dvije glavne vrste, i to na operativne i zagovaračke organizacije. Operativne organizacije nastoje osmisliti, razviti i provoditi projekte u cilju društvenog, gospodarskog ili ekološkog boljitka.

Zagovaračke organizacije nastoje utjecati na zakonodavstvo ili na oblikovanje politika kroz zagovaranje ili promicanje različitih ciljeva, a česte su i nevladine organizacije „s jednim ciljem“, kada je cijela organizacija posvećena samo jednom konkretnom problemu poput ljudskih prava, prava i zaštite životinja ili održivosti na području okoliša.

Nevladine organizacije obično se odlikuju snažnom potporom baze i velikim iskustvom rada na terenu, a također su prilično inovativne i znaju uspješno komunicirati sa širom javnošću i putem medija.

Izravno se obraćaju potrošačima i često postavljaju nove trendove jer otvaraju važna socioekonomska pitanja i tako potiču promjene u političkoj klimi, što na kraju dovodi i do zakonskih promjena.

U Europskoj uniji i SAD-u zakonodavna tijela obično traže mišljenje nevladinih organizacija posvećenih različitim poslovnim pitanjima i/ili nacionalnih stručnih organizacija prilikom izrade prijedloge zakona i propisa. Kao primjere takvih nevladinih organizacija možemo spomenuti Udruženje proizvođača kozmetike, parfema i proizvoda za osobnu njegu (CTFA) iz SAD-a, Europsko udruženje za kozmetičku industriju (COLIPA) i Udruženje proizvođača kozmetičkih, toaletnih i parfumerijskih proizvoda (CTPA) iz Ujedinjenog Kraljevstva. Te organizacije usredotočuju se na znanstvena, regulatorna i zakonodavna pitanja vezana za sektor te vode neprekidan dijalog s vlastima u nastojanju da utječu na oblikovanje propisa i politika na području kozmetike.

Posljednjih su godina nevladine organizacije dobile na važnosti što se utjecaja tiče. Kao nedavni primjer možemo spomenuti uspješnu lobističku kampanju grupa za borbu za prava životinja kojom su uvjerali Europski parlament da u najnovije izmjene i dopune Direktive o kozmetičkim proizvodima uključi odredbu o zabrani ispitivanja na životinjama.

4.40.2. Ekološka održivost kao zakonodavni trend

Pokret nastao je u SAD-u 1960-ih, nakon niza sve strašnijih ekoloških katastrofa zbog onečišćenja okoliša klordekonom, teškim metalima, vinil-kloridom, polikloriranim bifenilima i klorofluorokarbonima. Agencija za zaštitu okoliša ima nadležnost nad svim kemijskim tvarima i smjesama (uključujući one navedene u propisima o pesticidima, hrani i lijekovima i sličnim savezним propisima). U te svrhe, Agencija zaštite okoliša dobila je važne alate vezane za regulaciju proizvodnje (što uključuje uvoz), preradu, distribuciju u prodaji, korištenje ili zbrinjavanje kemikalija. Ti alati obuhvaćaju popis kemikalija, nove procedure za provjeru kemikalija, zahtjeve o ispitivanju postojećih kemikalija, zaštitu od nerazumnih rizika, zahtjeve u pogledu podnošenja izvješća i vođenja evidencije, uvjete za uvoz i izvoz, itd.

S globalnog gledišta, niz država ima slične zakone slične kojima je cilj zajamčiti zaštitu javnog zdravlja i zdravstvene ekologije uz pomoć regulatornog sustava, koji predviđa temeljitu provjeru i kontrolu kemijskih tvari tijekom cijelog životnog ciklusa proizvoda.

Zahvaljujući prisutnosti u medijima i aktivizmu brojnih ekoloških nevladinih organizacija, potrošači su bolje informirani, te zahtijevaju zaštitu kroz proaktivnu regulativu.

Iako kozmetički proizvodi ne spadaju u područje primjene većine međunarodnih propisa o kemijskim tvarima, najnoviji trendovi pokazuju da se zahtjevi iz zakonodavnih inicijativa ugrađuju i u zakone i propise koji utječu na kozmetičku industriju.

5. ZAKLJUČAK

Svi ekonomski pokazatelji sugeriraju na činjenicu da je tržište protiv starenja kože najperspektivnije u kozmetičkoj industriji. Potrošači očekuju, ne samo dugoročne učinke, već i učinke koji su odmah vidljivi nakon primjene.

Kompleksne marketinške strategije, te globalna distribucija novog kozmetičkog proizvoda nailaze na neočekivana regulatorna ograničenja koja se uvode u zadnji čas. To je velik problem za kozmetičku industriju, ali može se izbjeći. Uključivanje opsežne i kvalitetno pripremljene regulatorne strategije i analize u početnu fazu izrade koncepta razvoja kozmetičkog proizvoda, od ključne je važnosti za ukupni uspjeh globalnog razvoja proizvoda. Uspješna realizacija globalnog plana zahtjeva poznavanje različitih regionalnih regulatornih zahtjeva koji se odnose na odabir aktivne tvari, tvrdnje o proizvodima, oglašavanje i promotivne materijale. Provedba kvalitetnog postupka ocjenjivanja i ispitivanja sigurnosti kozmetičkog proizvoda, i to prije i nakon stavljanja na tržište, doprinose poslovnom uspjehu globalnih kozmetičkih kompanija i zadovoljstvu milijuna potrošača kozmetike protiv starenja kože.

Proizvodi protiv starenja kože lica u većini zemalja još su uvijek regulirani kao kozmetički proizvodi. Zakonska regulativa se usredotočuje na sigurnost takvih proizvoda za krajnjeg potrošača i potkrijepljenost vezanih tvrdnji djelovanja kozmetičkog proizvoda. S obzirom da kozmetički proizvodi najčešće predstavljaju vrlo mali rizik za zdravlje potrošača, obično nisu visoko na listi prioriteta regulatora. Regulatorne prepreke koje proizvođači, kozmetičke kompanije trebaju prevladati razlikuju se od zemlje do zemlje. Ovisno o tome je li potrebno pribaviti odobrenje prije stavljanja na tržište i obaviti registraciju ili se pak veća odgovornost stavlja na proizvođače. U tom slučaju se mjere za prisilno poštivanje propisa provode tek nakon stavljanja proizvoda na tržište. Iako se standardi u pogledu nadzora ili stupnja provedbe mogu razlikovati, u svim regulatornim sustavima možemo prepoznati dva načela koja se odnose na proizvode protiv starenja kože. Ta načela glase: proizvod mora biti siguran za predviđenu namjenu i sve iznesene tvrdnje o proizvodu moraju biti potkrijepljene.

Danas se u borbi protiv starenja kože koriste sve dostupne i raspoložive aktivne tvari koje su u stoljetnoj uporabi, ali im pariraju inovacije i patentirane aktivne tvari, često u uporabi pod zaštićenim imenom proizvođača. Time se produbljuju razlike između pobornika prirodnih aktivnih tvari i korisnika najnovijih aktivnih molekula u kozmetičkim proizvodima.

Spoznaja o antioksidansima i blagotvornosti djelovanja na organizam, a posebno na kožu održiva je kroz više od pola stoljeća. Vitamini i biljni ekstrakti pokazali su snažna antioksidacijska svojstva i vrlo često su aktivne tvari u kozmetičkim pripravcima protiv starenja. Stoga je važan tehnološki proces inkorporiranja aktivne tvari u kozmetički proizvod kako bi mu se osigurala topljivost i kemijska stabilnost, a čime se globalne lideri kozmetičke industrije ističu.

U posljednjem desetljeću kao aktivna tvar u proizvodima protiv starenja koriste se peptidi. Stabilni i topikalno aplicirani peptidi otvorili su nova polja modulirajućih molekula primjenjivih u dermatologiji i industriji njege kože. Najveći problem topikalne uporabe peptida je njihova niska penetracijska sposobnost. Potencijal penetracije ovisi o različitim čimbenicima. Pokazalo se da su peptidi i hijaluronska kiselina s molekulskom masom manjom od 500 kDa, najučinkovitiji pri prolasku kroz epidermis.

Kozmetički proizvodi protiv starenja kože ne smatraju se samo perkutanom upijajućim sredstvom, već se podrazumijeva i osjećaj uživanja prilikom nanošenja. Dodatna emocionalna vrijednost ne može se zanemariti u primjeni kozmetičkih proizvoda, te male razlike mirisa i formulacije snažno utječu na sklonost prema određenom proizvodu. U većini slučajeva struktura formulacije definira dodir i osjećaj prilikom nanošenja kozmetičkog proizvoda.

Tijekom posljednjih 20 godina, broj inovacija u kozmetičkoj industriji je u velikom porastu, te rezultira širokim spektrom proizvoda za zaštitu i hidrataciju kože lica, kao i za borbu protiv starenja. Također, potrošači su zabrinutiji zbog svog izgleda, pokušavajući prihvatiti nove paradigme društva. Stoga je danas proizvođačima kozmetičkih proizvoda imperativ pratiti trendove u njezi i borbi protiv starenja kože.

Veličina tržišta kozmetičke industrije i broj zastupljenih proizvoda u njezi protiv starenja kože ne pokazuju trend stagnacije i u ovim danas izazovnim vremenima, već se nastoji nesmanjenim ulaganjima u istraživanje i razvoj kreirati koncept najučinkovitijeg proizvoda u njezi protiv starenja kože.

6. LITERATURA

1. Ganceviciene R, Liakou A, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis C. Skin anti-aging strategies. *Derm Endocrin* 2012;4:08–319.
2. Costaa J, Vitorinob R, Silvad G, Vogeld C, Rocha-Santosa D. A synopsis on aging - Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Res Rev* 2016;29: 90–112.
3. Gilchrest B, Krutmann J. *Skin Aging*. Berlin: Springer 2006;9-143.
4. Tobin DJ. Introduction to skin aging. *J Tissue Viability* 2017;26(1):37-46.
5. Gilchrest B, Krutmann J. *Skin Aging*. Berlin: Springer; 2006; str. 9-143.
6. Farage M, Miller K, Maibach H. *Textbook of Aging Skin*. Berlin: Springer; 2010, str. 48-56.
7. McLean AJ, Le Couteur DG. Aging biology and geriatric clinical pharmacology. *Pharmacol Rev*. 2004;56(2):163-184.
8. Lipozenčić, J, (ur.) *Dermatovenerologija*. Zagreb: Naklada Zadro; 1999; str. 14-18.
9. Wohlrab J, Hilpert K, Wolff L. Epidermal aging and anti-aging strategies. *Hautarzt*. 2016;67(2):107-111.
10. Kligman A. How the dead stratum corneum became alive. In: *Stratum Corneum, The Vital Structure* (R Marks, P Matts, JL Leveque, eds). Cardiff: Stratum Corneum Group;2005; 45.
11. Montagna W, Carlisle K. Structural changes in aging human skin. *J Invest Dermatol*. 1979;73(1):47-53.
12. Basta-Juzbašić A. i sur. *Dermatovenerologija*. Zagreb, Medicinska naklada, 2014,6-10.
13. Wertz PW. Epidermal lipids. *Semin Dermatol* 1992;11(2):106-113.
14. Feingold KR. Thematic review series: skin lipids. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J Lipid Res*. 2007;48(12):2531-2546.
15. Jakob T. The changing faces of Langerhans cells. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(11):1773.
16. Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther*. 2004;17 Suppl 1:43-48.
17. Rutter N. The dermis. *Semin Neonatol*. 2000;5(4):297-302.
18. Haydont V, Bernard BA, Fortunel NO. Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics. *Mech Ageing Dev*. 2019;177:150-156.
19. Thulabandu V, Chen D, Atit RP. Dermal fibroblast in cutaneous development and healing. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2018;7(2):10.

20. Shin JW, Kwon SH, Choi JY, i sur. Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *Int J Mol Sci.* 2019;20(9):2126.
21. Stern R, Maibach HI. Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clin Dermatol.* 2008;26(2):106-122.
22. Keen MA. Hyaluronic Acid in Dermatology. *Skinmed.* 2017;15(6):441-448.
23. Driskell RR, Jahoda CA, Chuong CM, Watt FM, Horsley V. Defining dermal adipose tissue. *Exp Dermatol.* 2014;23(9):629-631.
24. Kruglikov I, Trujillo O, Kristen Q, i sur. The Facial Adipose Tissue: A Revision. *Facial Plast Surg.* 2016;32(6):671-682.
25. Khavkin J, Ellis DA. Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2011;19(2):229-234.
26. Nikolakis G, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Skin mirrors human aging. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2013;16(1):13-28.
27. Puri P, Nandar SK, Kathuria S, Ramesh V. Effects of air pollution on the skin: A review. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2017;83(4):415-423.
28. Ortiz A, Grando SA. Smoking and the skin. *Int J Dermatol.* 2012;51(3):250-262.
29. Smith JB, Fenske NA. Cutaneous manifestations and consequences of smoking. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34(5 Pt 1):717-734.
30. Han A, Chien AL, Kang S. Photoaging. *Dermatol Clin.* 2014;32(3):291.
31. Ichihashi M, Ueda M, Budiyo A, et al. UV-induced skin damage. *Toxicology.* 2003;189(1-2):21-39.
32. Mohania D, Chandel S, Kumar P, et al. Ultraviolet Radiations: Skin Defense-Damage Mechanism. *Adv Exp Med Biol.* 2017;996:71-87.
33. Leccia MT, Béani JC. Helioderatitis or photo-induced skin aging. *Ann Dermatol Venereol* 1995;122(10):720-728.
34. Stoebner PE, Meunier L. Photoaging of face. *Ann Dermatol Venereol*; 2008, 135 str.
35. Craik FIM, Salthouse TA. *Handbook of Aging and Cognition.* Erlbaum Hillsdale 1992.
36. Timiras PS. Old age as a stage of life: common terms related to aging and methods used to study aging. In: Timiras PS. ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics.* 4th ed. New York: Informa Healthcare USA 2007;3-10.
37. Jin K. Modern Biological Theories of Aging. *Aging Dis.* 2010;1(2):72-74.

38. Strohman R. Maneuvering in the complex path from genotype to phenotype. *Science* 2002; 296:701.
39. Hayflick L. *How and Why We Age*. New York: Ballantine Books; 1994.
40. Davalli P, Mitic T, Caporali A, Lauriola A, D'Arca D. ROS, Cell Senescence, and Novel Molecular Mechanisms in Aging and Age-Related Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 3565127.
41. Strehler BL. *Time, Cells, and Aging* Larnaca: Demetriades Brothers; 1999.
42. Rose MR, Nusbaum TJ. Prospects for postponing human aging. *FASEB J* 1994; 8: 925-8.
43. Davalli P, Mitic T, Caporali A, Lauriola A, D'Arca D. ROS, Cell Senescence, and Novel Molecular Mechanisms in Aging and Age-Related Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;3565127.
44. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11: 298-300.
45. Niles JC, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Peroxynitrite- induced oxidation and nitration products of guanine and 8-oxoguanine: structures and mechanisms of product formation. *Nitric Oxide* 2006;14:109-21.
46. Kammeyer A, Luiten RM. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res Rev*. 2015;21:16-29.
47. Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2007;292:R18-R36.
48. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules* 2015;5(2):545-589.
49. Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clinical Nutrition* 2003;78:361- 9.
50. Victorelli S, Passos JF. Telomeres and Cell Senescence - Size Matters Not. *EBioMedicine*. 2017;21:14-20.
51. Autaxier C. Telomeres, Telomerase and Aging. *Geriatr Aging* 2008; 11(S10):12-3.
52. Kim SH, Kaminker P, Campisi J. Telomeres, aging and cancer: in search of a happy ending. *Oncogene* 2002;21:503-11.
53. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev* 2008; 88:557-79.

54. Levy MZ, Allsopp RC, Futcher AB, Greider CW, Harley CB. Telomere endreplication problem and cell aging. *J Mol Biol* 1992;225:951-60.
55. D'Adda di Fagagna FP, Reaper M, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, Von Zglinicki T, et al. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature* 2003;426:194–8.
56. Campisi J. Cellular senescence, cell death, and transgenic mouse models of aging. In: Timiras PS. ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 4th ed. New York. Informa Healthcare USA 2007:41-54.
57. Ben-Porath I, Weinberg RA. When cells get stressed: an integrative view of cellular senescence. *J Clin Invest* 2004;113:8-13.
58. Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes. *Exp Gerontol* 2003;38:5-11.
59. Lio D, Scola L, Crivello A i sur. Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF-alpha -308 promoter SNP. *J Med Genet* 2003;40:296-9.
60. Carey JR, Zou S. Theories of life span and aging. In: Timiras PS. ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*. 4th ed. New York. Informa Healthcare USA;2007:55-70.
61. Austad SN. *Why We Age: What Science is Discovering about the Body's Journey through Life*. New York: John Wiley & Sons, 1997.
62. Pawelec G. Immunosenescence and human longevity. *Biogerontology* 2003;4:167-70.
63. Čajkovec M. *Kozmetologija*. Jastrebarsko Naklada Slap 2005.
64. Kumar S. Exploratory analysis of global cosmetic industry: major players, technology and market trends. *Tecnov* 2005; 25:1263-1272.
65. Surber C, Kottner J. Skin care products: What do they promise, what do they deliver. *J Tissue Viability*. 2017;26(1):29-36.
66. Bayerl C. Skin aging and evidence-based topical strategies. *Hautarzt*. 2016;67(2):140-147.
67. Tsubota K. Aging science comes of age. *NPJ Aging Mech Dis*. 2015;1:15007.
68. Lorencinia M, Brohema C, Dieamanta G, Zanchinb N, Maibachd H. Active ingredients against human epidermal aging. *Ageing Res Rev* 2014;15:100-115.

69. Zouboulis CC, Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Elewa R, Makrantonaki E. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. *Clin Dermatol.* 2019;37(4):365.
70. Paye M, Maibach H. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3rd ed. New York Informa Healthcare;2009.
71. Tsubota K. Aging science comes of age. *NPJ Aging Mech Dis*;2015;1:15007.
72. Rosholt AP. Cosmetic anti-aging formulations-international regulatory aspects. U: Dayan N. *ur. Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development*. New York: William Andrew Inc.; 2008, str. 393-408.
73. Voegeli R, Gierschendorf J, Summers B, Rawlings AV. Facial skin mapping: from single point bio-instrumental evaluation to continuous visualization of skin hydration, barrier function, skin surface pH, and sebum in different ethnic skin types. *Int J Cosmet Sci.* 2019;41(5):411-424.
74. Ballin AC, Brandt FS, Cazzaniga A. Dermal fillers: an update. *Am J Clin Dermatol.* 2015;16(4):271-283.
75. Bacos JT, Dayan SH. Superficial Dermal Fillers with Hyaluronic Acid. *Facial Plast Surg.* 2019;35(3):219-223.
76. Fallacara A, Manfredini S, Durini E, Vertuani S. Hyaluronic Acid Fillers in Soft Tissue Regeneration *Facial Plast Surg.* 2017;33(1):87-96.
77. Small R. Botulinum toxin injection for facial wrinkles. *Am Fam Physician.* 2014;90(3):168-175.
78. Srivastava R, Manfredini M, Rao BK. Noninvasive imaging tools in dermatology. *Cutis.* 2019;104(2):108-113.
79. Lévêque JL, Querleux B. SkinChip, a new tool for investigating the skin surface in vivo. *Skin Res Technol.* 2003;9(4):343-347.
80. Zhang Q, Murawsky M, LaCount T, Kasting GB, Li SK. Transepidermal water loss and skin conductance as barrier integrity tests. *Toxicol In Vitro.* 2018;51:129-135.
81. Ohshima H, Kinoshita S, Oyobikawa M, et al. Use of Cutometer area parameters in evaluating age-related changes in the skin elasticity of the cheek. *Skin Res Technol.* 2013;19(1).

82. Prow TW, Tan JM, Pellacani G. Reflectance confocal microscopy: hallmarks of keratinocyte cancer and its precursors. *Curr Probl Dermatol*. 2015;46:85-94.
83. Rawlings AV, Matts PS, Anderson CD, Roberts MS. Skin biology, xerosis, barrier repair and measurement. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2008;5:127-136.
84. Milisav I, Ribarič S, Poljsak B. Antioxidant Vitamins and Ageing. *Subcell Biochem*. 2018;90:1-23.
85. Comhaire FH, Depypere HT. Hormones, herbal preparations and nutraceuticals for a better life after the menopause: part II. *Climacteric*. 2015;18(3):364-371.
86. Ettinger B, Quesenberry C, Schroeder DA, Friedman G. Long-term postmenopausal estrogen therapy may be associated with increased risk of breast cancer: a cohort study. *Menopause*. 2018;25(11):1191-1194.
87. Amer M, Maged M. Cosmeceuticals versus pharmaceuticals. *Clin Dermatol*. 2009;27(5):428-430.
88. Bissett DL. Common cosmeceuticals. *Clin Dermatol*. 2009;27(5):435-445.
89. Rivers JK. The role of cosmeceuticals in antiaging therapy. *Skin Therapy Lett*. 2008;13(8):5-9.
90. Draelos ZD. Active agents in common skin care products. *Plast Reconstr Surg*. 2010;125(2):719-724.
91. Baek J, Lee MG. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. *Redox Rep*. 2016;21(4):164-169.
92. Kammeyer A, Luiten RM. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res Rev*. 2015;21:16-29.
93. Mayoral FA, Kenner JR, Draelos ZD. The skin health and beauty pyramid: a clinically based guide to selecting topical skincare products. *J Drugs Dermatol*. 2014;13(4):414-421.
94. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*. 2015;5(2):545-589.
95. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(2):532-553.
96. Sepasi Tehrani H, Moosavi-Movahedi AA. Catalase and its mysteries. *Prog Biophys Mol Biol*. 2018;140:5-12.
97. Lephart ED. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. *Ageing Res Rev*. 2016;31:36-54.

98. Lupo MP. Antioxidants and vitamins in cosmetics. *Clin Dermatol*. 2001;19(4):467-473.
99. Masaki H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*. 2010;58(2):85-90.
100. Rosholt AP. Cosmetic anti-aging formulations-international regulatory aspects. U: Dayan N. *ur. Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development*. New York: William Andrew Inc.; 2008, str. 393-408.
101. Blomhoff R, Green MH, Berg T, Norum KR. Transport and storage of vitamin A. *Science*. 1990;250(4979):399-404.
102. Riahi RR, Bush AE, Cohen PR. Topical Retinoids: Therapeutic Mechanisms in the Treatment of Photodamaged Skin. *Am J Clin Dermatol*. 2016;17(3):265-276.
103. Olsen EA, Katz HI, Levine N, et al. Tretinoin emollient cream: a new therapy for photodamaged skin. *J Am Acad Dermatol*. 1992;26(2 Pt 1):215-224.
104. Dhaliwal S, Rybak I, Ellis SR, et al. Prospective, randomized, double-blind assessment of topical bakuchiol and retinol for facial photoageing. *Br J Dermatol*. 2019;180(2):289-296.
105. Kwon HS, Lee JH, Kim GM, Bae JM. Efficacy and safety of retinaldehyde 0.1% and 0.05% creams used to treat photoaged skin: A randomized double-blind controlled trial. *J Cosmet Dermatol*. 2018;17(3):471-476.
106. Pena-Rodríguez E, Moreno MC, Blanco-Fernandez B, González J, Fernández-Campos F. Epidermal Delivery of Retinyl Palmitate Loaded Transfersomes: Penetration and Biodistribution Studies. *Pharmaceutics*. 2020;12(2):112.
107. Tammi R, Ripellino JA, Margolis RU, Maibach HI, Tammi M. Hyaluronate accumulation in human epidermis treated with retinoic acid in skin organ culture. *J Invest Dermatol*. 1989;92(3):326-332.
108. Mukherjee S, Date A, Patravale V, Korting HC, Roeder A, Weindl G. Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Interv Aging*. 2006;1(4):327-348.
109. Sorg O, Antille C, Kaya G, Saurat JH. Retinoids in cosmeceuticals. *Dermatol Ther*. 2006;19(5):289-296.
110. Antille C, Tran C, Sorg O, Saurat JH. Penetration and metabolism of topical retinoids in ex vivo organ-cultured full-thickness human skin explants. *Skin Pharmacol Physiol*. 2004;17(3):124-128.

111. Cheer SM, Foster RH. Alitretinoin. *Am J Clin Dermatol*. 2000;1(5):307-316.
112. Shapiro S, Heremans A, Mays DA, Martin AL, Hernandez-Medina M, Lanes S. Use of topical tretinoin and the development of noncutaneous adverse events: evidence from a systematic review of the literature. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(6):1194-1201.
113. Makarov MV, Trammell SAJ, Migaud ME. The chemistry of the vitamin B3 metabolome. *Biochem Soc Trans*. 2019;47(1):131-147.
114. Jacobson MK, Jacobson EL. Vitamin B3 in Health and Disease: Toward the Second Century of Discovery. *Methods Mol Biol*. 2018;1813:3-8.
115. Bissett DL, Oblong JE, Berge CA. Niacinamide: A B vitamin that improves aging facial skin appearance. *Dermatol Surg*. 2005;31(7 Pt 2):860-865.
116. Forbat E, Al-Niaimi F, Ali FR. Use of nicotinamide in dermatology. *Clin Exp Dermatol*. 2017;42(2):137-144.
117. Bissett DL, Robinson LR, Raleigh PS, et al. Reduction in the appearance of facial hyperpigmentation by topical N-acetyl glucosamine. *J Cosmet Dermatol*. 2007;6(1):20-26.
118. Kimball AB, Kaczvinsky JR, Li J, et al. Reduction in the appearance of facial hyperpigmentation after use of moisturizers with a combination of topical niacinamide and N-acetyl glucosamine: results of a randomized, double-blind, vehicle-controlled trial. *Br J Dermatol*. 2010;162(2):435-441.
119. Pullar JM, Carr AC, Vissers MCM. The Roles of Vitamin C in Skin Health. *Nutrients*. 2017;9(8):866.
120. Al-Niaimi F, Chiang NYZ. Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2017;10(7):14-17.
121. Farris PK. Topical vitamin C: a useful agent for treating photoaging and other dermatologic conditions. *Dermatol Surg*. 2005;31(7 Pt 2):814-818.
122. Duarah S, Durai RD, Narayanan VB. Nanoparticle-in-gel system for delivery of vitamin C for topical application. *Drug Deliv Transl Res*. 2017;7(5):750-760.
123. Telang PS. Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2013;4(2):143-146.
124. Al-Niaimi F, Chiang NYZ. Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2017;10(7):14-17.
125. Raschke T, Koop U, Düsing HJ, et al. Topical activity of ascorbic acid: from in vitro optimization to in vivo efficacy. *Skin Pharmacol Physiol*. 2004;17(4):200-206.

126. Elmore AR. Final report of the safety assessment of L-Ascorbic Acid, Calcium Ascorbate, Magnesium Ascorbate, Magnesium Ascorbyl Phosphate, Sodium Ascorbate, and Sodium Ascorbyl Phosphate as used in cosmetics. *Int J Toxicol*. 2005;2:51-111.
127. Fitzpatrick RE, Rostan EF. Double-blind, half-face study comparing topical vitamin C and vehicle for rejuvenation of photodamage. *Dermatol Surg*. 2002;28(3):231-236.
128. De Dornael R, Bastien P, Sextius P, et al. Vitamin C Prevents Ultraviolet-induced Pigmentation in Healthy Volunteers: Bayesian Meta-analysis Results from 31 Randomized Controlled versus Vehicle Clinical Studies. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2019;12(2):E53-E59.
129. Lam PL, Kok SH, Bian ZX, et al. Microencapsulation-protected l-ascorbic acid for the application of human epithelial HaCaT cell proliferation. *J Microencapsul*. 2014;31(8):754-758.
130. Lee GY, Han SN. The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*. 2018;10(11):1614.
131. Khadangi F, Azzi A. Vitamin E - The Next 100 Years. *IUBMB Life*. 2019;71(4):411-415.
132. Zingg JM. Vitamin E: Regulatory Role on Signal Transduction. *IUBMB Life*. 2019;71(4):456-478.
133. Rangarajan M, Zatz JL. Effect of formulation on the topical delivery of alpha-tocopherol. *J Cosmet Sci*. 2003;54(2):161-174.
134. 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(5-6):646-667.
135. Lin JY, Selim MA, Shea CR, et al. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48(6):866-874.
136. Burke KE. Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals. *Dermatol Ther*. 2007;20(5):314-321.
137. Adams AK, Connolly SM. Allergic contact dermatitis from vitamin E: the experience at Mayo Clinic Arizona, 1987 to 2007. *Dermatitis*. 2010;21(4):199-202.
138. Proksch E, de Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *J Dermatolog Treat*. 2017;28(8):766-773.
139. Pavlačková J, Egner P, Sedláček T, Mokrejš P, Sedlaříková J, Polášková J. In vivo efficacy and properties of semisolid formulations containing panthenol. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(1):346-354.

140. Camargo FB Jr, Gaspar LR, Maia Campos PM. Skin moisturizing effects of panthenol-based formulations. *J Cosmet Sci.* 2011;62(4):361-370.
141. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(2):227-250.
142. Beitner H. Randomized, placebo-controlled, double blind study on the clinical efficacy of a cream containing 5% alpha-lipoic acid related to photoageing of facial skin. *Br J Dermatol.* 2003;149(4):841-849.
143. Lin JY, Lin FH, Burch JA, et al. Alpha-lipoic acid is ineffective as a topical antioxidant for photoprotection of skin. *J Invest Dermatol.* 2004;123(5):996-998.
144. Hoppe U, Bergemann J, Diembeck W, et al. Coenzyme Q10, a cutaneous antioxidant and energizer. *Biofactors.* 1999;9(2-4):371-378.
145. Inui M, Ooe M, Fujii K, Matsunaka H, Yoshida M, Ichihashi M. Mechanisms of inhibitory effects of CoQ10 on UVB-induced wrinkle formation in vitro and in vivo. *Biofactors.* 2008;32(1-4):237-243.
146. Prahl S, Kueper T, Biernoth T, et al. Aging skin is functionally anaerobic: importance of coenzyme Q10 for anti aging skin care. *Biofactors.* 2008;32(1-4):245-255.
147. Garrido-Maraver J, Cordero MD, Oropesa-Avila M, et al. Clinical applications of coenzyme Q10. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2014;19:619-633.
148. Montenegro L, Turnaturi R, Parenti C, Pasquinucci L. Idebenone: Novel Strategies to Improve Its Systemic and Local Efficacy. *Nanomaterials (Basel).* 2018;8(2):87.
149. Petyaev IM, Pristensky DV, Morgunova EY, et al. Lycopene presence in facial skin corneocytes and sebum and its association with circulating lycopene isomer profile: Effects of age and dietary supplementation. *Food Sci Nutr.* 2019;7(4):1157-1165.
150. Rescio L, Maio A, Cazzola, P. Lycopene, photoprotection and skin care: The benefits of organic quality. *Journal of Plastic Dermatology.* 2010;6:37-47.
151. Wohlrab J, Kreft D. Niacinamide - mechanisms of action and its topical use in dermatology. *Skin Pharmacol Physiol.* 2014;27(6):311-315.
152. Bains P, Kaur M, Kaur J, Sharma S. Nicotinamide: Mechanism of action and indications in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2018;84(2):234-237.
153. Barciszewski J, Massino F, Clark BF. Kinetin--a multiactive molecule. *Int J Biol Macromol.* 2007;40(3):182-192.

154. Wanitphakdeedecha R, Meeprathom W, Manuskiatti W. Efficacy and safety of 0.1% kinetin cream in the treatment of photoaging skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2015;81(5):547.
155. Kadlecová A, Maková B, Artal-Sanz M, Strnad M, Voller J. The plant hormone kinetin in disease therapy and healthy aging. *Ageing Res Rev*. 2019;55:100958.
156. Malanga G, Aguiar MB, Martinez HD, Puntarulo S. New insights on dimethylaminoethanol (DMAE) features as a free radical scavenger. *Drug Metab Lett*. 2012;6(1):54-59.
157. Tadini KA, Campos PM. In vivo skin effects of a dimethylaminoethanol (DMAE) based formulation. *Pharmazie*. 2009;64(12):818-822.
158. Grossman R. The role of dimethylaminoethanol in cosmetic dermatology. *Am J Clin Dermatol*. 2005;6(1):39-47.
159. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie*. 2015;61(2-3):77-84.
160. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev*. 2005;9(1):11-24.
161. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Tan DX, Jou MJ, Galano A, Xu B. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(21):3863-3881.
162. Goswami S, Haldar C. Melatonin as a possible antidote to UV radiation induced cutaneous damages and immune-suppression: An overview. *J Photochem Photobiol B*. 2015;153:281-288.
163. Milani M, Sparavigna A. Antiaging efficacy of melatonin-based day and night creams: a randomized, split-face, assessor-blinded proof-of-concept trial. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2018;11:51-57.
164. Milani M, Sparavigna A. Antiaging efficacy of melatonin-based day and night creams: a randomized, split-face, assessor-blinded proof-of-concept trial. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2018;11:51-57.
165. Reuter J, Merfort I, Schempp CM. Botanicals in dermatology: an evidence-based review. *Am J Clin Dermatol*. 2010;11(4):247-267.
166. Hsu S. Green tea and the skin. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(6):1049-1059.
167. Ohishi T, Goto S, Monira P, Isemura M, Nakamura Y. Anti-inflammatory Action of Green Tea. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*. 2016;15(2):74-90.

168. Roh E, Kim JE, Kwon JY, et al. Molecular mechanisms of green tea polyphenols with protective effects against skin photoaging. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017;57(8):1631-1637.
169. Vayalil PK, Elmets CA, Katiyar SK. Treatment of green tea polyphenols in hydrophilic cream prevents UVB-induced oxidation of lipids and proteins, depletion of antioxidant enzymes and phosphorylation of MAPK proteins in SKH-1 hairless mouse skin [retracted in: *Carcinogenesis.* 2018 May 3;39(5):738.
170. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry.* 2002;60(3):205-211.
171. Back PI, Furtado LR, Nemitz MC, et al. Skin Permeation and Oxidative Protection Effect of Soybean Isoflavones from Topical Nanoemulsions-a Comparative Study of Extracts and Pure Compounds. *AAPS PharmSciTech.* 2018;19(7):3029-3039.
172. Nichols JA, Katiyar SK. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res.* 2010;302(2):71-83.
173. Zillich OV, Schweiggert-Weisz U, Eisner P, Kerscher M. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *Int J Cosmet Sci.* 2015;37(5):455-464.
174. Shaygannia E, Bahmani M, Zamanzad B, Rafieian-Kopaei M. A Review Study on *Punica granatum L.* *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2016;21(3):221-227.
175. Hu GL , Wang X , Zhang L , Qiu MH . The sources and mechanisms of bioactive ingredients in coffee. *Food Funct.* 2019;10(6):3113-3126.
176. Coffeeberry Cascara - Soluble, Sustainable | FutureCeuticals
Available at: <https://www.futureceuticals.com/coffeeberry-cascara> Accessed July 27, 2020.
177. Couteau C, Cheignon C, Paparis E, Coiffard LJ. Silymarin, a molecule of interest for topical photoprotection. *Nat Prod Res.* 2012;26(23):2211-2214.
178. Vostálová J, Tinková E, Biedermann D, Kosina P, Ulrichová J, Rajnochová Svobodová A. Skin Protective Activity of Silymarin and its Flavonolignans. *Molecules.* 2019;24(6):1022.
179. Marini, Alessandra & Grether-Beck, Susanne & Jaenicke, Thomas & Weber, M & Burki, C & Formann, P & Brenden, Heidi & Schönlau, F & Krutmann, Jean. (2012). Pycnogenol (R) Effects on Skin Elasticity and Hydration Coincide with Increased Gene Expressions of Collagen Type I and Hyaluronic Acid Synthase in Women. *Skin pharmacology and physiology.* 25. 86-92.
180. Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztein H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacol Physiol.* 2018;31(6):332-336.

181. Ratz-Łyko A, Arct J. Resveratrol as an active ingredient for cosmetic and dermatological applications: a review. *J Cosmet Laser Ther.* 2019;21(2):84-90.
182. Shin JW, Lee HS, Na JI, Huh CH, Park KC, Choi HR. Resveratrol Inhibits Particulate Matter-Induced Inflammatory Responses in Human Keratinocytes. *Int J Mol Sci.* 2020;21(10):3446.
183. Igielska-Kalwat J, Firlej M, Lewandowska A, Biedziak B. In vivo studies of resveratrol contained in cosmetic emulsions. *Acta Biochim Pol.* 2019;66(3):371-374.
184. Kwon SH, Yang JH, Shin JW, Park KC, Huh CH, Na JI. Efficacy of liposome-encapsulated 4-n-butylresorcinol and resveratrol cream in the treatment of melasma. *J Cosmet Dermatol.* 2020;19(4):891-895.
185. Nishinami S, Yoshizawa S, Arakawa T, Shiraki K. Allantoin and hydantoin as new protein aggregation suppressors. *Int J Biol Macromol.* 2018;114:497-503.
186. Wawrzyniak D, Rolle K, Barciszewski J. Aktywność biologiczna N6-furfuryloadenozyny [Biological activity of N6-furfuryladenine]. *Postepy Biochem.* 2019;65(2):109-117.
187. Berardesca E, Bertona M, Altabas K, Altabas V, Emanuele E. Reduced ultraviolet-induced DNA damage and apoptosis in human skin with topical application of a photolyase-containing DNA repair enzyme cream: clues to skin cancer prevention. *Mol Med Rep.* 2012;5(2):570-574.
188. DeBoyes T, Kouba D, Ozog D, et al. Reduced number of actinic keratoses with topical application of DNA repair enzyme creams. *J Drugs Dermatol.* 2010;9(12):1519-1521.
189. Park JW, Hwang SR, Yoon IS. Advanced Growth Factor Delivery Systems in Wound Management and Skin Regeneration. *Molecules.* 2017;22(8):1259.
190. Chen J, Jiao D, Zhang M, et al. Concentrated Growth Factors Can Inhibit Photoaging Damage Induced by Ultraviolet A (UVA) on the Human Dermal Fibroblasts In Vitro. *Med Sci Monit.* 2019;25:3739-3749.
191. Fabi S, Sundaram H. The potential of topical and injectable growth factors and cytokines for skin rejuvenation. *Facial Plast Surg.* 2014;30(2):157-171.
192. Jeon YJ, Kim YH, Jeon YJ, et al. Increased synthesis of hyaluronic acid by enhanced penetration of CTP-EGF recombinant in human keratinocytes. *J Cosmet Dermatol.* 2019;10.1111/jocd.12855. doi:10.1111/jocd.12855

193. Mirnezami M, Rahimi H, Fakhar HE, Rezaei K. The Role of Topical Estrogen, Phenytoin, and Silver Sulfadiazine in Time to Wound Healing in Rats. *Ostomy Wound Manage*. 2018;64(8):30-34.
194. Rzepecki AK, Murase JE, Juran R, Fabi SG, McLellan BN. Estrogen-deficient skin: The role of topical therapy. *Int J Womens Dermatol*. 2019;5(2):85-90.
195. Kavooosi F, Dastjerdi MN, Valiani A, Esfandiari E, Sanaei M, Hakemi MG. Genistein potentiates the effect of 17-beta estradiol on human hepatocellular carcinoma cell line. *Adv Biomed Res*. 2016;5:133.
196. Stanczyk FZ. Treatment of postmenopausal women with topical progesterone creams and gels: are they effective?. *Climacteric* 2014;2:8-11.
197. Lupo MP, Cole AL. Cosmeceutical peptides. *Dermatol Ther* 2007;20:343-349.
198. Pai VV, Bhandari P, Shukla P. Topical peptides as cosmeceuticals. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2017;83(1):9-18.
199. Benson HA, Namjoshi S. Proteins and peptides: strategies for delivery to and across the skin. *J Pharm Sci* 2008;97:3591-3610.
200. Gorouhi F, Maibach HI. Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *Int J Cosmet Sci*. 2009;31(5):327-345.
201. Mentel M, Schild J, Maczkiewitz U, Koehler T, Farwick M. Innovative peptide technologies for even, young and healthy looking skin. *SOFW-J* 2012;138:22-33.
202. Abu Samah NH, Heard CM. Topically applied KTTKS: a review. *Int J Cosmet Sci* 2011;33(6):483-490.
203. Wang Y, Wang M, Xiao XS, Huo J, Zhang WD. The anti-wrinkle efficacy of Argireline. *J Cosmet Laser Ther* 2013;15(4):237-241.
204. Pickart L, Vasquez-Soltero JM, Margolina A. GHK Peptide as a Natural Modulator of Multiple Cellular Pathways in Skin Regeneration. *Biomed Res Int*. 2015;648108.
205. Castelletto V, Hamley IW, Whitehouse C, Matts PJ, Osborne R, Baker ES. Self-assembly of palmitoyl lipopeptides used in skin care products. *Langmuir* 2013;29(29):9149-9155.
206. Cauchard JH, Berton A, Godeau G, Hornebeck W, Bellon G. Activation of latent transforming growth factor beta 1 and inhibition of matrix metalloprotease activity by a thrombospondin-like tripeptide linked to elaidic acid. *Biochem Pharmacol* 2004;67(11):2013-2022.

207. STL FP Volume 10 Number 3 - Author at Skin TherapyLetter
Available at: <https://www.skintherapyletter.com/volume/fp-10-3/> Accessed July 28, 2020.
208. Pickart L, Margolina A. Regenerative and Protective Actions of the GHK-Cu Peptide in the Light of the New Gene Data. *Int J Mol Sci* 2018;19(7):1987
209. Pickart L, Vasquez-Soltero JM, Margolina A. GHK Peptide as a Natural Modulator of Multiple Cellular Pathways in Skin Regeneration. *Biomed Res Int.* 2015;2015:648108.
210. Pollard JD, Quan S, Kang T, Koch RJ. Effects of copper tripeptide on the growth and expression of growth factors by normal and irradiated fibroblasts. *Arch Facial Plast Surg.* 2005;7(1):27-31.
211. Jia Z, Lu H, Yang X i sur. Adverse Events of Botulinum Toxin Type A in Facial Rejuvenation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Aesthetic Plast Surg.* 2016;40(5):769-777.
212. Kraeling ME, Zhou W, Wang P, Ogunsola OA. In vitro skin penetration of acetyl hexapeptide-8 from a cosmetic formulation. *Cutan Ocul Toxicol.* 2015;34(1):46-52.
213. Trookman NS, Rizer RL, Ford R, Ho E, Gotz V. Immediate and Long-term Clinical Benefits of a Topical Treatment for Facial Lines and Wrinkles. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2009;2(3):38-43.
214. Zhou W, Wang PG, Krynitsky AJ, Rader JI. Rapid and simultaneous determination of hexapeptides (Ac-EEMQRR-amide and H₂N-EEMQRR-amide) in anti-wrinkle cosmetics by hydrophilic interaction liquid chromatography-solid phase extraction preparation and hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2011;1218(44):7956-7963.
215. Kooyers TJ, Westerhof W. Toxicological aspects and health risks associated with hydroquinone in skin bleaching formula. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2004;148(16):768-771.
216. Tse TW. Hydroquinone for skin lightening: safety profile, duration of use and when should we stop?. *J Dermatolog Treat.* 2010;21(5):272-275.
217. Ahmad Nasrollahi S, Sabet Nematzadeh M, Samadi A, et al. Evaluation of the safety and efficacy of a triple combination cream (hydroquinone, tretinoin, and fluocinolone) for treatment of melasma in Middle Eastern skin. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2019;12:437-444.

218. Makino ET, Mehta RC, Banga A, Jain P, Sigler ML, Sonti S. Evaluation of a hydroquinone-free skin brightening product using in vitro inhibition of melanogenesis and clinical reduction of ultraviolet-induced hyperpigmentation. *J Drugs Dermatol* 2013;12(3):s16-s20.
219. Maeda K, Fukuda M. Arbutin: mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;276(2):765-769.
220. Zhou H, Zhao J, Li A, Reetz MT. Chemical and Biocatalytic Routes to Arbutin †. *Molecules*. 2019;24(18):3303.
221. Nakamura K, Yoshida M, Uchiwa H, Kawa Y, Mizoguchi M. Down-regulation of melanin synthesis by a biphenyl derivative and its mechanism. *Pigment Cell Res*. 2003;16(5):494-500.
222. Saeedi M, Eslamifar M, Khezri K. Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. *Biomed Pharmacother*. 2019;110:582-593.
223. Singh BK, Park SH, Lee HB, et al. Kojic Acid Peptide: A New Compound with Anti-Tyrosinase Potential. *Ann Dermatol* 2016;28(5):555-561.
224. Noh JM, Kwak SY, Kim DH, Lee YS. Kojic acid-tripeptide amide as a new tyrosinase inhibitor. *Biopolymers*. 2007;88(2):300-307.
225. Kim DH, Hwang JS, Baek HS, et al. Development of 5-[(3-aminopropyl)phosphinoxy]-2-(hydroxymethyl)-4H-pyran-4-one as a novel whitening agent. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2003;51(2):113-116.
226. Tang SC, Yang JH. Dual Effects of Alpha-Hydroxy Acids on the Skin. *Molecules* 2018;23(4):863.
227. Ramos-e-Silva M, de Castro MC, da Silva Carneiro SC, Lambert WC. Alpha-hydroxy acids: unapproved uses or indications. *Skinmed*. 2004;3(3):141-148.
228. Vidt DG, Bergfeld WF. Cosmetic use of alpha-hydroxy acids. *Cleve Clin J Med*. 1997;64(6):327-329.
229. Tang SC, Yang JH. Dual Effects of Alpha-Hydroxy Acids on the Skin. *Molecules*. 2018;23(4):863.
230. Babilas P, Knie U, Abels C. Cosmetic and dermatologic use of alpha hydroxy acids. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2012;10(7):488-491.
231. Schulte BC, Wu W, Rosen T. Azelaic Acid: Evidence-based Update on Mechanism of Action and Clinical Application. *J Drugs Dermatol* 2015;14(9):964-968.

232. Hashim PW, Chen T, Harper JC, Kircik LH. The Efficacy and Safety of Azelaic Acid 15% Foam in the Treatment of Facial Acne Vulgaris. *J Drugs Dermatol* 2018;17(6):641-645.
233. Mazurek K, Pierzchała E. Comparison of efficacy of products containing azelaic acid in melasma treatment. *J Cosmet Dermatol* 2016;15(3):269-282.
234. Bandyopadhyay D. Topical treatment of melasma. *Indian J Dermatol* 2009;54(4):303-309.
235. Sawant O, Khan T. Management of periorbital hyperpigmentation: An overview of nature-based agents and alternative approaches [published online ahead of print, 2020 May 29]. *Dermatol Ther.* 2020;e13717.
236. Seino H, Arai Y, Nagao N, Ozawa N, Hamada K. Efficient Percutaneous Delivery of the Antimelanogenic Agent Glabridin Using Cationic Amphiphilic Chitosan Micelles. *PLoS One.* 2016;11(10):e0164061.
237. Moruś M, Baran M, Rost-Roszkowska M, Skotnicka-Graca U. Plant stem cells as innovation in cosmetics. *Acta Pol Pharm* 2014;71(5):701-707.
238. Taub AF, Pham K. Stem Cells in Dermatology and Anti-aging Care of the Skin. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2018;26(4):425-437.
239. Godic A. The role of stem cells in anti-aging medicine. *Clin Dermatol.* 2019;37(4):320-325.
240. Sanz MT, Campos C, Milani M i sur. Biorevitalizing effect of a novel facial serum containing apple stem cell extract, pro-collagen lipopeptide, creatine, and urea on skin aging signs. *J Cosmet Dermatol.* 2016;15(1):24-30.
241. Lee J, Shin MS, Kim MO i sur. Apple ethanol extract promotes proliferation of human adult stem cells, which involves the regenerative potential of stem cells. *Nutr Res.* 2016;36(9):925-936.
242. Juchaux F.: Delaying effect of PhytoCellTec Malus Domestica on senescence of dermal fibroblasts. *Mibelle Biochemistry.*
243. Sieber M.: Effect of PhytoCellTec Malus Domestica on human stem cells. *Mibelle Biochemistry.*
244. Bissett DL. Glucosamine: An ingredient with skin and other benefits. *J Cosmet Dermatol* 2006;5(4):309-315.
245. Chen JK, Shen CR, Liu CL. N-acetylglucosamine: production and applications. *Mar Drugs* 2010;8(9):2493-2516.

246. Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers (Basel)* 2018;10(7):701.
247. Lubart R, Yariv I, Fixler D, Lipovsky A. Topical Hyaluronic Acid Facial Cream with New Micronized Molecule Technology Effectively Penetrates and Improves Facial Skin Quality: Results from In-vitro, Ex-vivo, and In-vivo (Open-label) Studies. *J Clin Aesthet Dermatol* 2019;12(10):39-44.
248. Raab S, Yatskayer M, Lynch S, Manco M, Oresajo C. Clinical Evaluation of a Multi-Modal Facial Serum That Addresses Hyaluronic Acid Levels in Skin. *J Drugs Dermatol*. 2017;16(9):884-890.
249. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol*. 2012;4(3):253-258.
250. Sze JH, Brownlie JC, Love CA. Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. *3 Biotech* 2016;6(1):67.
251. Kawada C, Yoshida T, Yoshida H i sur. Ingested hyaluronan moisturizes dry skin. *Nutr J*. 2014;13:70. Published 2014 Jul 11.
252. Essendoubi M, Gobinet C, Reynaud R, Angiboust JF, Manfait M, Piot O. Human skin penetration of hyaluronic acid of different molecular weights as probed by Raman spectroscopy. *Skin Res Technol* 2016;22(1):55-62.
253. Coderch L, López O, de la Maza A, Parra JL. Ceramides and skin function. *Am J Clin Dermatol*. 2003;4(2):107-129.
254. Canals D, Salamone S, Hannun YA. Visualizing bioactive ceramides. *Chem Phys Lipids*. 2018;216:142-151.
255. Vollmer DL, West VA, Lephart ED. Enhancing Skin Health: By Oral Administration of Natural Compounds and Minerals with Implications to the Dermal Microbiome. *Int J Mol Sci* 2018;19(10):3059.
256. Ogawa Y, Kawamura T, Shimada S. Zinc and skin biology. *Arch Biochem Biophys*. 2016;611:113-119.
257. Ogawa Y, Kawamura T, Shimada S. Zinc and skin biology. *Arch Biochem Biophys*. 2016;611:113-119.
258. Cai Z, Zhang J, Li H. Selenium, aging and aging-related diseases. *Aging Clin Exp Res*. 2019;31(8):1035-1047.

259. Zhu X, Jiang M, Song E, Jiang X, Song Y. Selenium deficiency sensitizes the skin for UVB-induced oxidative damage and inflammation which involved the activation of p38 MAPK signaling. *Food Chem Toxicol* 2015;75:139-145.
260. Jepps OG, Dancik Y, Anissimov YG, Roberts MS. Modeling the human skin barrier - Towards a better understanding of dermal absorption. *Adv Drug Deliver Rev* 2013;65:152-168.
261. Karadzovska D, Brooks JD, Monteiro-Riviere NA, Riviere JE. Predicting skin permeability from complex vehicles. *Adv Drug Deliver Rev* 2013;65:265-277.
262. Pittermann, W. & SCHMITT, M. & Kietzmann, Manfred. Skin penetration properties of cosmetic formulations using a perfused bovine udder model. *J Cosmet Sci.* 1999.;50.
263. Lheritier A. *ur Formulations*. Hoboken: N.J. Wiley 2011;255-269.
264. Draelos ZD. The cosmetic dose: how much are you getting?. *J Cosmet Dermatol.* 2013;12(3):169. doi:10.1111/jocd.12054
265. Technology Watch Report Product innovation in Cosmetics, *Available at:*
http://hubb30.cat/sites/default/files/content/nodes/event/document/53/informe_vigilancia_tecnologica_cosmetica_en.pdf Accessed August 1, 2020
266. Intellectual Property and Patent in Cosmetics, *Available at:*
https://www.researchgate.net/publication/317780056_Intellectual_Property_and_Patent_in_Cosmetics
267. Accessed August 1, 2020. Previšić J.; Škare, V. (2004). „Proizvod“. U Jozo Previšić, Đurđana Ozretić Došen (ur.) *Marketing*. Zagreb: ADVERTA d.o.o., str. 169-200.
268. Kotler, P. (2001). *Upravljanje marketingom. Analiza, Planiranje, Primjena i Kontrola*. Zagreb: MATE d.o.o.
269. Kesić, T.; Piri Rajh, S. (2004). „Ponašanje potrošača“ U Jozo Previšić, Đurđana Ozretić Došen (ur.) *Marketing*. Zagreb: ADVERTA d.o.o., str.108-129.
270. Cosmetic industry, *Available at: colipa.eu/cosmetic-industry*
271. Accessed August 1, 2020. Kumar S. Exploratory analysis of global cosmetic industry: major players, technology and market trends. *Tecnov* 2005;25:1263-1272.
272. Rosholt AP. Cosmetic anti-aging formulations-international regulatory aspects. U: Dayan N. *ur. Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development*. New York: William Andrew Inc.; 2008, str. 393-408.

273. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament
274. Schroeder W. Strategic regulatory planning-key to success in anti-aging cosmetic product development. U: Dayan N. ur. Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development. New York: William Andrew Inc.; 2008, str. 409-454.

7. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: **Ksenija Lokas Kapetanović**
Datum i godina rođenja: 26/03/1966
Adresa: Rockefellerova 18, 10000 Zagreb
Mobilni kontakt: 091 600 10 25
E-mail adresa: **ksenija.lokas@beiersdorf.com**

OBRAZOVANJE

- 1985-1991 Farmaceutsko-biokemijski fakultet ,Sveučilište u Zagrebu,
- 1980-1984 Srednja medicinska škola, zdravstveni tehničar općeg smjera, Zagreb

RADNO ISKUSTVO

od 2000. g – danas Beiersdorf d.o.o.

Business Unit Manager Pharmacy/ za područje Hrvatske i Bosne i Hercegovine

1998-2000 Merck d.o.o. /Direktor marketinga i prodaje za lijekove

1992-1998 Unipharm d.d. / Izvršni direktor veleprodaje