

Use of PROAST software to assess the influence of decabrominated diphenyl ether and/or cadmium on thyroid hormones homeostasis in rats

Marijana Ćurčić^{1*}, Saša Janković², Vesna Jacević³, Sanja Stanković⁴, Slavica Vučinić³, Ksenija Durgo⁵, Biljana Antonijević¹

¹ University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Toxicology „Akademik Danilo Soldatovic”, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

² Institute of Meat Hygiene and Technology, Kacanskog 13, 11000 Belgrade, Serbia

³ Poison Control Center, Military Medical Academy, Crnotravska 17, 11000 Belgrade, Serbia

⁴ University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

⁵ Zagreb University - Faculty of Food Technology and Biotechnology, Department for Biochemical Engineering, Krsnjavoga 25, 1000 Zagreb, Croatia

Abstract

In relation to commonly used no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) point of departure, because of its statistical power and reliability, Benchmark dose (BMD) approach has been proposed as an alternative in dose-response assessment. The aim of this study was to derive BMD (10%) by means of PROAST software to quantify influence of cadmium (Cd) and/or decabrominated diphenyl ether (BDE209) on thyroid hormones homeostasis. Study was conducted on male *Wistar* rats treated orally by gavage for 28 days by either single substances or their combination. Three groups of animals were dosed with Cd at levels of 2.5, 7.5 and 15 mg/kg b.w./day, three groups of animals were dosed with BDE209 at levels of 1000, 2000 or 4000 mg/kg b.w./day, while 9 groups received different dose mixtures of previously given dose levels of Cd and BDE209 (design 3 x 3). Results of the study have indicated that Cd+BDE209 mixtures are likely more potent to disrupt thyroid function than would be expected from the chemicals individually. Derived BMD – lower confidence limits (BMDL), if ratio BMD/BMDL is < 10, were 9.4 mg Cd/kg b.w./day and 2155 mg BDE209/kg b.w./day for the effect on T3; and 6.22 mg Cd/kg b.w./day in the mixture with BDE209 2000 mg/kg b.w./day for the effect on FT3.

Key words: dose-response; decabrominated diphenyl ether; cadmium; thyroid hormones; mixture.

* Corresponding author: Phone: +381 113951248; Fax : +381113972840 ;
e-mail: makitox@pharmacy.bg.ac.rs

Introduction

Humans and all other organisms are typically exposed to multi-component chemical mixtures, present in the surrounding environmental media (water, air, soil), in food or in consumer products. However, chemical risk assessment usually considers the effects of single substances in isolation, an approach that is only justified if the exposure to mixtures does not bear the risk of an increased toxicity. Furthermore, there is strong evidence that chemicals with common specific modes of action work together to produce combination effects that are larger than the effects of each mixture component applied singly (1-3). Fewer studies have been conducted with mixtures composed of chemicals with diverse modes of action (4, 5), with results clearly pointing in the same direction: the effects of such mixtures are also higher than those of the individual components. Of particular interest, as reported within the findings of a project on mixture toxicology and ecotoxicology commissioned by the European Commission, DG Environment (4, 5) is to examine joint action chemicals of which cadmium (Cd) as relatively known environmental contaminant and novel one decabrominated diphenyl ether (BDE209) are the subject of the present work. It has been demonstrated that acute or chronic Cd exposure could result in toxic effects especially associated with targets such as liver, kidney, bone, lungs and testes in humans and experimental animals (6, 7). The available literature provides some data concerning Cd effects on thyroid gland (8-11) as well as estrogen like effects, referred in recent publication of Imran et al. (2010) (12). Recent studies with BDE209 have shown that it disturbs hepatic enzyme activity and thyroid hormone function (13-17), causes a decrease in epididymal sperm functions (18), and has potential neurotoxic and neonatal risks (19, 20). However, there are no available data on Cd and BDE209 combined toxicity, which is of utmost interest and particularly in the light of thyroid dysfunction as a subtle and critical event for neurodevelopmental toxicity of various chemicals (21).

Our recently published results based on mechanistic interpretation have indicated that Cd-BDE209 mixtures are likely more potent to disrupt thyroid function than would be expected from the chemicals individually (22). In order to exam dose-response relationship unlike tradionaly used no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) approach, in this study we calculated benchmark dose for the effect of 10% towards controls (BMD10) recommended by European Food Safety Authority (EFSA) in 2009 (23) for analysing dose-response data from experimental studies. Namely, the EFSA Scientific Committee concluded that the BMD approach is a scientifically more advanced method to the NOAEL approach for deriving a Reference Point (RP). Further on, during last year EFSA released into public technical report on use of PROAST software packages for applying the BMD approach in risk assessment (24), which we applied to model the effect of BDE209 and Cd on T3, T4, FT3 and FT4 level in rat subacutely exposed to single chemical or their mixture.

2. Materials and methods

2.1. Experimental animals

Male albino *Wistar* rats weighing 200-240 g were obtained from the disease free stock of the animal house of Military Medical Academy, Belgrade. The animals were housed in plastic cages with plastic bottom and wire mesh top, in climate-controlled facility with a constant day–night cycle (12 h/12h light-dark ratio) at a temperature of 20-24 °C and relative humidity between 40 and 60%. Food and tap water were offered *ad libitum* throughout the study. The experimental animals were treated according to the Guidelines for Animal Study No. 9667-1/2011 (Ethics Committee of the Military Medical Academy, Belgrade, Serbia).

After a quarantine period of 14 days, groups of 8 animals were treated orally by gavage for 28 days either by single substances or their combination in a volume of 0.5 mL/kg bw. Three groups of animals were dosed with 2.5, 7.5 and 15 mg Cd/kg b.w./day, calculated to Cd (groups were assigned as Cd 2.5, Cd 7.5 and Cd 15, respectively), three groups of animals were dosed with 1000, 2000 or 4000 mg BDE209/kg b.w./day (groups were assigned as BDE209 1000, BDE209 2000 and BDE209 4000, respectively), while 9 groups received different dose mixtures of previously given dose levels of Cd and BDE209 (design 3 x 3). Cd salt and BDE209 were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) prior to application. Rats in the vehicle control group received by gavage the vehicle only (DMSO group), while animals in control group received certain amount of saline solution (control group). Doses of Cd used in experiment have been chosen to reflect environmental to occupational exposure (6, 25) doses of BDE209 have been chosen based on experiments where similar endpoints were examined (26).

Blood was collected after decapitation from the carotid arteries in glass tubes, and then centrifuged at 3000×g for 30 min. The supernatant (serum) was transferred to polypropylene test tubes and stored at –70 °C until thyroid hormones analysed.

2.2. Chemicals

Cadmium-chloride ($\text{CdCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$) was purchased from Merck (Darmstadt, Germany) while BDE209 (98% pure) and dimethyl sulfoxide (DMSO) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

2.3. Hormone analysis

Serum samples were analyzed for thyroid-stimulating hormone (TSH), thyroxin (T4), free thyroxin (FT4), triiodothyronin (T3) and free triiodothyronin (FT3) using commercial tests on Roche Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Values for T3 and T4 are expressed as nmol/L, for FT3 and FT4 as pmol/L while for TSH as mIU/L.

2.4. Statistical analysis

For the modelling of dose response relationship the data were analysed by the BMD approach, using the PROAST software (24, 27). In this approach, the dose–response data are statistically evaluated in general, by fitting a dose–response model to the data. In the present study associated BMD10 (10 % was used as the practical default) (23). For most parameters, a BMD at this level appears to approximate the limit between adversity and adaptivity, based on the pathophysiology of the effect under experimental conditions in the rat. In addition, this default level also seems to be close to the within-animal variation (28, 29). The choice of the model for deriving the BMD follows from a procedure of selecting a model from the following nested family of models:

model 1: $y = a$; model 2: $y = a \exp(b x)$; model 3: $y = a \exp(b x d)$; model 4: $y = a (c - (c - 1)) \exp(b x)$ or model 5: $y = a (c - (c - 1)) \exp(b x d)$, assigned in figures as E1, E2, E3, E4 or E5, respectively. In these models the parameter a represents the background response; the parameter b reflects the ‘slope’ or the ‘strength’ of the response, c is maximal response relative to the background level, and d steepness (27). To account for statistical errors in the dose–response data, the confidence interval around the BMD (statistical lower confidence limit of BMD - BMDL) is calculated as well. The BMD/BMDL ratio was used as a measure for the (statistical) uncertainty in a data set. In case of a more than ten-fold difference between BMD and BMDL, the data were considered uninformative. For graphical presentation on a log-dose scale, an arbitrary value (but lower than the lowest dose) is used for plotting dose zero.

3. Results

In the present work dose-response relationship has been established and accordingly BMD10 and BMDL were derived for single chemical treatments as well as their mixture (Table I).

Exponential models were used for all data sets, while among them, model E4 was used in majority of cases. Exceptions were as follow: model E1 for the effect of BDE209 on FT3, and model E2 for the effects of Cd on T3, Cd+BDE209 2000 on FT3 and BDE209 on T3 and T4. Results obtained for TSH could not be used for further data analysis since all the values were below the limit of detection. Dose response model for the effect on T4 and FT4 did not change after adding different doses of BDE 209 to Cd, and for all tested sets of data model was the same, E4: $y = a (c - (c - 1)) \exp(b x)$. In the case of hormone T3 starting model E2 for Cd or E1 for BDE209, changed to the E4 for their mixture without further changes in a dose dependent manner. Unlike dose-

response model for T3, effect of Cd on FT3, T4 and FT4 could be described by model E4. Concerning FT3 hormone, addition of BDE209 changed the model proposed for BDE209. However, in comparison with the model initially fitted for Cd, addition of the first dose of BDE209 in the mixture did not change the model, whereas the next two higher doses lead to model change. Concerning T4 and FT4, mixtures have been defined by E4 model. It should be mentioned that in case of T4 hormone proposed model for a single compound BDE209 has changed from E2 to E4 when combined with Cd. Illustration of model fitted for the effects of mixtures of Cd and BDE 209 on FT3.

Table I Benchmark dose levels for the influence of Cd and/or BDE209 on thyroid hormones homeostasis

Treatment		T3	FT3	T4	FT4
Cd	BMD	15.2	0.0454	0.5771	0.4929
	BMDL	9.4	0.0014	0.0030	0.0025
	BMD/BMDL	1.6	32.4	192.3	197.2
Cd + BDE209 1000	BMD	1.0	0.0462	0.0339	0.0323
	BMDL	0.0020	0.0012	0.0013	0.0013
	BMD/BMDL	500	38.3	26.1	24.8
Cd + BDE209 2000	BMD	0.9501	11	0.0290	0.0281
	BMDL	0.0018	6.2201	0.0017	0.0013
	BMD/BMDL	527.8	1.8	17.1	21.6
Cd + BDE209 4000	BMD	0.0972	0.0454	0.0339	0.0281
	BMDL	0.001	0.0013	0.0013	0.0013
	BMD/BMDL	97.2	34.9	26.1	21.6
BDE209	BMD	3266	/	16.7	18.9
	BMDL	2155	/	0.0270	0.0330
	BMD/BMDL	1.5	/	618.1	572.7

Cd - groups dosed with 2.5, 7.5 or 15 mg Cd/kg b.w./day;

Cd + BDE209 1000 - groups dosed with 2.5, 7.5 or 15 mg Cd/kg b.w./day and 1000 mg BDE209/ kg b.w./day;

Cd + BDE209 2000 - groups dosed with 2.5, 7.5 or 15 mg Cd/kg b.w./day and 2000 mg BDE209/ kg b.w./day;

Cd + BDE209 4000 - groups dosed with 2.5, 7.5 or 15 mg Cd/kg b.w./day and 4000 mg BDE209/ kg b.w./day;

BDE209 - groups dosed with 1000, 2000 or 4000 mg BDE209/kg b.w./day; the BMD/BMDL ratio < 10 was considered to be of relevance (grey highlighted cells).

In general, BMDL decreased from Cd groups over Cd plus BDE209 groups (Table I). In the case of T3, decrease of BMDL is followed by an increase of BDE209 dose in the mixture and the lowest calculated BMDL for T3 (0.0010 mg Cd/kg b.w./day) was obtained for the mixture of Cd and the highest dose of BDE209. For FT3 the lowest BMDL was 0.0012 mg Cd/kg b.w./day, but for the mixture of Cd and the lowest dose of BDE209. The lowest derived BMDL was 0.0013 mg Cd/kg b.w./day in the mixture with BDE209 1000 or 4000, for the effect on T4 hormone. For the all mixtures of chemicals, derived BMDL for the effect on FT4 was 0.0013 mg Cd/kg b.w./day.

Illustration of model fitted for the effects of mixtures of Cd and BDE209 on FT3 is presented on the Figure 1.

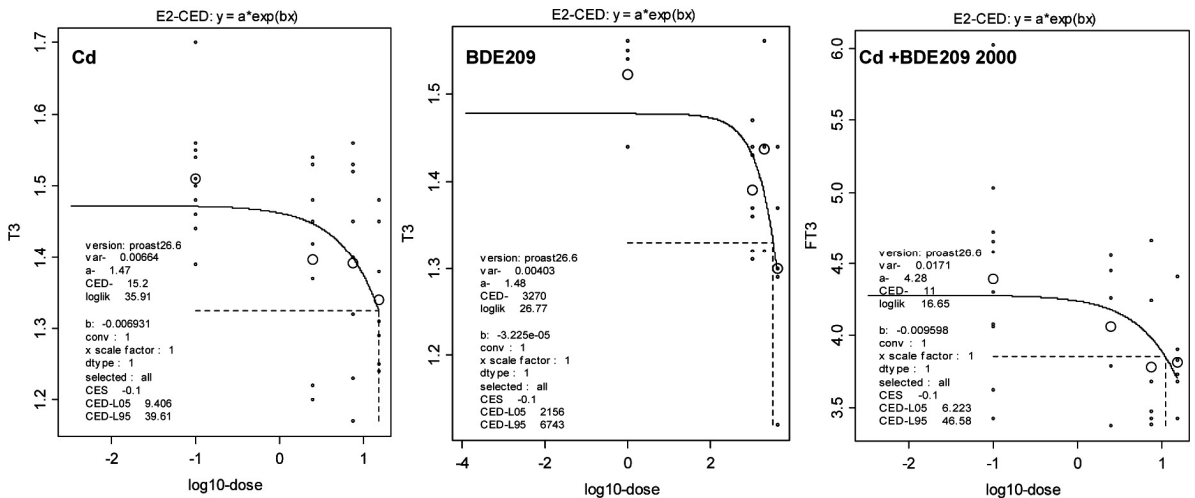


Figure 1. Dose–response curves for the effects on T3 and FT3, analysed against external dose of Cd, BDE209 or mixture of Cd with BDE209.

Parameter a is the background (control) level, b reflects the efficacy of exposure (slope), c maximal response relative to the background level, d steepness. Log likelihood is used to assess to what extent the described curve deviates from no effect ($y = a$). Critical effect size (CES on the figures), for these endpoints set at 10% (horizontal dotted lines); a corresponding critical effect dose (CED on the figures=Benchmark dose-BMD) is represented by the vertical dotted line; L05 and L95 represent the lower and upper bounds of the 90% confidence interval. Exposure dose (X -axis) is on a logarithmic scale.

4. Discussion

Our recently published results have demonstrated that subacute exposure to a mixture of BDE209 and Cd has adverse effects on thyroid hormone homeostasis in adult male rats to a larger extent than BDE209 or Cd alone (22). Application of different

doses of BDE209 resulted in statistically significant decrease but in the following hormone levels: FT3, T4 decreased after application of BDE209 in dose of 1000 mg BDE209/kg b.w./day, while FT3, T4, FT4 after administration of 2000 mg BDE209/kg b.w./day, and T3 after exposure to 4000 mg BDE209/kg b.w./day. Similarly, significant decrease in FT4 was obtained after 2.5 mg Cd/kg b.w./day, in FT3, T4 levels after 7.5 mg Cd/kg b.w./day and in FT3 after 15 mg Cd/kg b.w./day. Contribution of mixture was seen when doses of 1000 or 2000 mg BDE209/kg b.w./day were given along with all three doses of Cd inducing decrease in T3, T4 or FT4 levels in comparison with corresponding dose levels of either Cd or BDE209 (22).

Results of different studies have also shown that Cd and BDE209 *per se* may influence thyroid function (30-39). Thyroid dysfunction might be related to structural damage of thyroid follicular cells due to accumulation of Cd in the thyroid gland (40-42), whereas PBDEs have been shown to bind to thyroid receptors (TRs) and perhaps have selective effects on TRs function thus belonging to the group of environmental chemicals that act as thyroid hormone analogues (31, 32, 43-45).

Phenomenon related to combined Cd and BDE209 toxicity was planned to be defined in a dose-related manner by the use of PROAST software (24, 27). Traditionally, when experimental animal data are used for risk assessment of substances, which are not genotoxic and carcinogenic, the NOAEL and/or the Lowest-Observed-Adverse-Effect-Level (LOAEL) for the critical effect of a substance, forms the RP for deriving health-based guidance values, such as an Acceptable Daily Intake (ADI). However, while this approach may utilise qualitative information, it does not use the data available in a quantitative way. In contrast, the BMD approach makes extended use of the dose-response data from studies in experimental animals or from observational epidemiological studies to better characterise and quantify potential risks. After comparing the strengths and weaknesses of the BMD and NOAEL approaches for deriving RP for risk assessment, it has been concluded that the BMD approach is a scientifically more advanced method to the NOAEL approach for deriving a RP, since it makes extended use of available dose-response data and it provides a quantification of the uncertainties in the dose-response data (23). Using the BMD approach also results in a more consistent RP, as a consequence of the specified benchmark response.

In the present study for all treated groups exponential models were fitted, and accordingly BMD and BMDL values were calculated. However, only in the cases where BMD/BMDL ratio was lower than 10, *i.e.* 9.4 mg Cd/kg b.w./day and 2155 mg BDE209/kg b.w./day for the effect on T3; and 6.22 mg Cd/kg b.w./day in mixture with BDE209 2000 mg/kg b.w./day for the effect on FT3, which means that this BMDL could be used as point of departure for further steps in risk analysis (23) (Table I).

5. Conclusion

Application of PROAST software for the effects of Cd and/or BDE209 on thyroid hormone levels confirmed dose-response relationship for both single chemicals and mixture treatment. Some of the resultant BMDL doses may be further assessed and used as a point of departure for establishing health based guidance value.

6. Acknowledgement

This work was partly supported by the Ministry of Education and Science, Serbia (Project III 46009).

References

1. Boon P, Van Klaveren J. Cumulative exposure to acetylcholinesterase inhibiting compounds in the Dutch population and young children (Wageningen: RIKILT – Dutch state institute for quality control of agricultural products). 2000.
2. EPA, 2002, Revised OP Cumulative Risk Assessment [<http://www.epa.gov/pesticides/cumulative>]
3. Mileson BE, Chambers JE, Chen WL, Dettbarn W, Enrich M, Eldefrawi AT, Gaylor DW, Hamernik K, Hodgson E, Karczmar AG, Padilla S, Pope CN, Richardson RJ, Saunders DR, Sheets LP, Sultatos LG, Wallace KB. Common mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides. *Toxicol Sci* 1998; 41: 8-20.
4. EC, 2009. State of the Art Report on Mixture toxicity. Final Report. European Commission, 2009.
5. Mumtaz M. Principles and Practice of Mixture Toxicology. Ed. Mumtaz M. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. 2010.
6. ATSDR, Toxicological profile for Cadmium, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, USA, 2008.
7. WHO, 1992. Environmental health criteria, 134 Cadmium. International Program on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1992.
8. Hammouda F, Messaoudi I, El Hani J, Baati T, Saïd K, Kerkeni A. Reversal of Cadmium-Induced Thyroid Dysfunction by Selenium, Zinc, or Their Combination in Rat. *Biol. Trace Elem Res* 2008; 126: 194–203.
9. Gupta P, Kar A. Cadmium induced thyroid dysfunction in chicken: hepatic type I iodothyronine 5'-monodeiodinase activity and role of lipid peroxidation. *Comp Biochem Physiol C* 1999; 123: 39–44.
10. Pilat-Marcinkiewicz B, Sawicki B, Brzoska MM, Jakoniuk JM. Effect of chronic administration of cadmium on the rat thyroid: radioimmunological and immunohistochemical studies. *Folia Histochem Cytobiol* 2002; 40: 189–90.
11. Yoshizuka M, Mori N, Hamasaki K, Tanaka I, Yokoyama M, Hara K. Cadmium toxicity in the thyroid gland of pregnant rats. *Exp Mol Pathol* 1991; 55: 97–104.

12. Imran A, Penttinen-Damdimopoulou P, Mäkelä SI, Berglund M, Stenius U, Åkesson Håkansson H, Halldin K. Estrogen-Like Effects of Cadmium in Vivo Do Not Appear to be Mediated via the Classical Estrogen Receptor Transcriptional Pathway. *Environ Health Persp* 2010; 118(10): 1389-94.
13. Hallgren S, Sinjari T, Håkansson H, Darnerud P. Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice. *Arch Toxicol* 2001; 75(4): 200-8.
14. Hallgren S, Darnerud PO. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and chlorinated paraffins (CPs) in rats - testing interactions and mechanisms for thyroid hormone effects. *Toxicology* 2002; 177(2-3): 227-43.
15. Skarman E, Darnerud PO, Öhrvik H, Oskarsson A. Reduced thyroxine levels in mice perinatally exposed to polybrominated diphenyl ethers. *Environ Toxicol Pharmacol* 2005; 19(2): 273-81.
16. Zhou T, Ross DG, De Vito MJ, Crofton KM. Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Sci* 2001; 61(1): 76-82.
17. Zhou T, Taylor MM, De Vito MJ, Crofton KM. Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicol Sci* 2002; 66(1): 105-16.
18. Tseng L, Lee C, Pan M, Tsai S, Li M, Chen J et al. Postnatal exposure of the male mouse to 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabrominated diphenyl ether: Decreased epididymal sperm functions without alterations in DNA content and histology in testis. *Toxicology* 2006; 224(1-2): 33-43.
19. Chen J, Liufu C, Sun W, Sun X, Chen D. Assessment of the neurotoxic mechanisms of decabrominated diphenyl ether (PBDE-209) in primary cultured neonatal rat hippocampal neurons includes alterations in second messenger signaling and oxidative stress. *Toxicol Lett* 2010; 192(3): 431-9.
20. Goodman JE. Neurodevelopmental effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) and implications for the reference dose. *Regul Toxicol Pharm* 2009; 54(1): 91-104.
21. Colborn T. Neurodevelopment and endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 944-9.
22. Curcic M, Jacevic V, Stankovic S, Jankovic S, Durgo K, Vucinic S, Antonijevic B. Effects of BDE 209 and cadmium mixture on thyroid hormone levels in rats. 48th Congress of the European Societies of Toxicology, EUROTOX, Paris, France, August 28-31, 2011. *Toxicology Letters* 2011; 205 (Supplement): S210-1.
23. EFSA, 2009. Guidance of the Scientific Committee on a request from EFSA on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *The EFSA Journal* 2009; 1150: 1-72.
24. EFSA, 2011. European Food Safety Authority; 2011. Use of BMDS and PROAST software packages by EFSA Scientific Panels and Units for applying the Benchmark Dose (BMD) approach in risk assessment. EN-113. [190 pp.].
25. Brzóska MM, Kamiński M, Supernak-Bobko D, Zwierz K and Moniuszko-Jakoniuk J. Changes in the structure and function of the kidney of rats chronically exposed to cadmium. I. Biochemical and histopathological studies. *Arch Toxicol* 2003; 77(6): 344-52.
26. ATSDR, Toxicological profile for Polybrominated biphenyls and Polybrominated diphenyl ethers, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, USA, 2004.
27. Slob W. Dose-response modeling of continuous endpoints. *Toxicol Sci* 2002; 66(2): 298-312.
28. Dekkers S, Telman J, Rennen MAJ, Appel MJ, De Heer C.. Within-animal variation as an indication of the minimal magnitude of the critical effect size for continuous toxicological parameters applicable in the benchmark dose approach. *Risk Anal* 2006; 26(4): 867-80.

29. Gaylor DW, Slikker Jr. W. Role of the standard deviation in the estimation of benchmark doses with continuous data. *Risk Anal* 2004; 24(6): 1683-7.
30. Zoeller RT. Environmental chemicals as thyroid hormone analogues: New studies indicate that thyroid hormone receptors are targets of industrial chemicals? *Mol Cell Endocrinol* 2005; 242(1-2): 10-5.
31. Zoeller RT. Environmental chemicals impacting the thyroid: Targets and consequences. *Thyroid* 2007; 17(9): 811-817.
32. Caride A, Fernández-Pérez B, Cabaleiro T, Tarasco M, Esquifino AI, Lafuente A. Cadmium chronotoxicity at pituitary level: Effects on plasma ACTH, GH, and TSH daily pattern. *J Physiol Biochem* 2010; 66(3): 213-20.
33. Chaurasia SS, Gupta P, Kar A, Maiti PK. Free radical mediated membrane perturbation and inhibition of TYPE-I iodothyronine 5'-monodeiodinase activity by lead and cadmium in rat liver homogenate. *Biochem. Mol Biol Int* 1996; 39(4): 765-70.
34. Darnerud PO, Eriksen GS, Jóhannesson T, Larsen PB, Viluksela M. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environ Health Perspect* 2001; 109(1): 49-68.
35. Gill U, Chu I, Ryan JJ, Feeley M. Polybrominated diphenyl ethers: Human tissue levels and toxicology. *Rev Environ Contam Toxicol* 2004; 182: 55-96.
36. Gupta P, Chaurasia SS, Maiti PK, Kar A. Cadmium induced alterations in extrathyroidal conversion of thyroxine to triiodothyronine by type-I iodothyronine 5'-monodeiodinase in male mouse. *Horm Metab Res* 1997; 29: 151-2.
37. Lafuente A, Cano P, Esquifino AI. Are cadmium effects on plasma gonadotropins, prolactin, ACTH, GH and TSH levels, dose-dependent? *Biometals* 2003; 16(2): 243-50.
38. Lee E, Kim TH, Choi JS, Nabanata P, Kim NY, Ahn MY et al. Evaluation of liver and thyroid toxicity in sprague-dawley rats after exposure to polybrominated diphenyl ether BDE-209. *J Toxicol Sci* 2010; 35(4): 535-45.
39. Nordberg GF. Cadmium metabolism and toxicity. *Environm. Physiol Biochem* 1972; 2: 7-36.
40. Piłat-Marcinkiewicz B, Malgorzata M, Brzoska MM, Sawicki B, Jakoniuk JM. Structure and function of thyroid follicular cells in female rats chronically exposed to cadmium. *Bull Vet Inst PuLawy* 2003; 47: 157-63.
41. Piłat-Marcinkiewicz B, Brzóska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Thyroid and parathyroid function and structure in male rats chronically exposed to cadmium. *Pol J Environ Stud* 2008; 17(1): 113-20.
42. Pavia Jr MA, Paier B, Noli MI, Hagmüller K, Zaninovich AA. Evidence suggesting that cadmium induces anon-thyroidal illness syndrome in the rat. *J Endocrinol* 1997; 154(1): 113-117.
43. Pijnenburg AM, Everts JW, de Boer J, Boon JP. Polybrominated biphenyl and diphenylether flame retardants: analysis, toxicity, and environmental occurrence. *Rev. Environ Contam Toxicol* 1995; 141: 1-26.
44. Van der Ven LTM, van de Kuil T, Leonards PE., Slob W, Cantón RF, Germer S et al. A 28-day oral dose toxicity study in wistar rats enhanced to detect endocrine effects of decabromodiphenyl ether (decaBDE). *Toxicol Lett* 2008; 179(1): 6-14.
45. Wang F, Wang J, Dai J, Hu G, Wang J, Luo X et al. Comparative tissue distribution, biotransformation and associated biological effects by decabromodiphenyl ethane and decabrominated diphenyl ether in male rats after a 90-day oral exposure study. *Environ Sci. Technol* 2010; 44(14): 5655-60.

Primena PROAST softvera za ispitivanje uticaja dekabromovanog difeniletra i/ili kadmijuma na homeostazu hormona štitaste žlezde kod pacova

Marijana Ćurčić^{1*}, Saša Janković², Vesna Jacević³, Sanja Stanković⁴, Slavica Vučinić³, Ksenija Durgo⁵, Biljana Antonijević¹

¹ Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović”, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

² Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Srbija

³ Centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Crnotravska 17, 11000 Beograd, Srbija

⁴ Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

⁵ Sveučilište u Zagrebu - Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Kršnjačeva 25, 1000 Zagreb, Hrvatska

Kratak sadržaj

Primena statistički dobijene Benchmark doze (BMD) u proceni rizika predstavlja alternativu najčešće korišćenoj „dozi bez štetnog efekta” (NOAEL) zbog veće pouzdanosti u analizi odnosa doze i toksičnog efekta. Cilj ovog rada bio je izračunavanje BMD (10%) primenom PROAST softvera radi kvantitativne procene uticaja Cd i/ili BDE209 na homeostazu hormona štitaste žlezde. Ispitivanje je sprovedeno na mužjacima *Wistar* pacova koji su putem oralne sonde, tokom 28 dana, primali pojedinačne supstance ili njihove kombinacije. Kadmijum je primenjivan u dozama od 2,5, 7,5 i 15 mg Cd/kg t.m./dan, a BDE209 u dozama od 1000, 2000 i 4000 mg BDE209/kg t.m./dan, dok je ostalih devet grupa životinja primalo kombinacije hemikalija (dizajn 3 x 3). Rezultati studije ukazuju da smeša Cd i BDE209 verovatno izaziva intenzivniji poremećaj funkcije štitaste žlezde nego svaka od supstanci pojedinačno. Izračunate Benchmark doze (10%), odnosno odgovarajuće donje granice pouzdanosti (BMDL), uz uslov da je BMD/BMDL < 10, iznose 9,4 mg Cd/kg t.m./dan i 2155 mg BDE209/kg t.m./dan za efekte na T3 hormon, a za efekat na FT3 hormon 6,22 mg Cd/kg t.m./dan u smeši sa BDE209 od 2000 mg/kg.

Ključne reči: doza-odgovor; dekabromovani difeniletar; kadmijum; hormoni štitaste žlezde; smeša.

Derivati tiazolidindiona – mehanizam delovanja, biotransformacija i neželjena dejstva

Olivera Čudina*, Jasmina Brborić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju,
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

*Autor za korespondenciju. e-mail: ocudina@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Dijabetes tipa 2 je metaboličko oboljenje koje karakteriše relativni nedostatak insulina, rezistencija na insulin i povećano oslobađanje glukoze iz jetre. Lekovi koji se koriste u terapiji ovog oboljenja (hipoglikemici) mogu se klasifikovati u sedam različitih grupa. Tiazolidindioni (glitazoni) povećavaju osetljivost na insulin, preuzimanje i potrošnju glukoze u mišićima i masnom tkivu, a sve to utiče na smanjeno oslobađanje glukoze iz jetre. Ovi lekovi su agonisti PPAR receptora (receptori aktivirani proliferatorom peroksizoma) i dovode do transkripcije gena uključenih u metabolizam glukoze i lipida. Tiazolidindioni se međusobno razlikuju po strukturi supstituenata na 2,4-tiazolidindionu. Podležu intenzivnom metabolizmu u jetri, sa svim metaboličkim promenama na tiazolidinskom prstenu ili susednoj aril grupi. Postoji veliko interesovanje za metabolizam troglitazona, jer se njegova hepatotoksičnost povezuje sa metabolitom troglitazona tipa hinona. Tiazolidindioni (rosigltazon i pioglitazon) su odobreni kao monoterapija ili u kombinaciji sa metforminom, derivatima sulfonilureje ili insulinom. Nažalost, novija istraživanja i meta-analize ukazale su na to da oba leka povećavaju faktore kardiovaskularnog rizika i učestalost srčane insuficijencije.

Ključne reči: oralni antidijabetici, tiazolidindioni, agonisti PPAR receptora, dijabetes tipa 2

Uvod

Dijabetes tipa 2 (insulin-nezavisni dijabetes) karakteriše rezistencija na insulin u efektornom organu i/ili smanjena sekrecija insulina. Za razliku od naglog gubitka funkcije β -ćelija koja je karakteristična za dijabetes tipa 1, pankreasne β -ćelije u dijabetesu tipa 2 podležu progresivnom pogoršanju u toku dužeg perioda.

Rezistencija na insulin nastaje kada se kod bolesnika stvori visoki titar antiinsulinskih IgG antitela i poveća potreba bolesnika za insulinom. Rezistencija na insulin često uzrokuje inicijalno povećanje nivoa insulina u plazmi, kao rezultat kompenzatornog povećanja sekrecije insulina. Na ovom stepenu, nivoi glukoze u krvi su normalni i bolest je asimptomatska. Kako u daljem toku bolesti funkcija β -ćelija opada, a rezistencija na insulin raste, razvija se hiperglikemija. Ovi bolesnici su često gojazni i obično obole u odraslom dobu; incidenca ovog tipa dijabetesa raste sa starošću. Rezistencija na insulin je važan deo patogeneze dijabetesa tipa 2 i povezana je sa povećanim kardiovaskularnim mortalitetom koji prati vrlo čest „metabolički sindrom” (visceralna gojaznost, hipertenzija, poremećaj lipida u krvi) (1, 2).

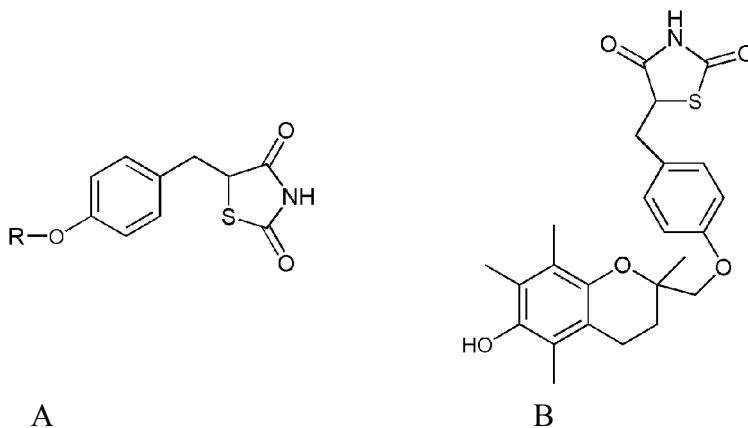
Za većinu pacijenata sa dijabetesom tipa 2 stanje se može poboljšati odgovarajućim promenama u životu, prvenstveno u režimu ishrane i redovnoj fizičkoj aktivnosti. Za pacijente koji na ovaj način ne mogu da normalizuju nivo glukoze u krvi, u terapiju se uvodi oralni antidijabetik.

Oralni antidijabetici se mogu podeliti u sedam grupa: bigvanidi, derivati sulfonilureje, meglitinidi, tiazolidindioni, inhibitori α -glukozidaze, agonisti inkretina i inhibitori dipeptidil peptidaze-4 (3).

Derivati tiazolidindiona (glitazoni)

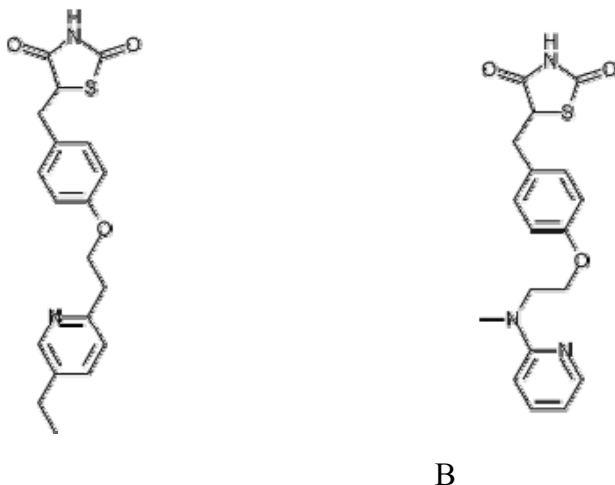
Tiazolidindioni pripadaju grupi hipoglikemika koji su označeni kao senzibilizatori na dejstvo insulina. Deluju tako što povećavaju osetljivost ciljnih organa (masno tkivo, skeletna muskulatura, jetra) na insulin i tako smanjuju koncentraciju glukoze u krvi (4). Ovi lekovi smanjuju oslobađanje glukoze iz jetre i povećavaju preuzimanje glukoze u mišiće, potencirajući efekat endogenog insulina i smanjujući potrebu za insulinom za oko 30 %. Osim toga, favorizuju metabolizam ugljenih hidrata, iskorišćavanje glukoze i lipogenezu u odnosu na oksidaciju lipida (5).

Tiazolidindioni se međusobno razlikuju po strukturi lipofilnog supstituenta (R) u položaju 5. Opšta formula glitazona, derivata 2,4-tiazolidindiona predstavljena je na Slici 1 (A).



Slika 1 Opšta formula glitazona (A) i struktura troglitazona (B)

Prvi otkriveni glitazon bio je ciglitazon, analog klofibrata, čiji je antihiperlikemijski efekat otkriven slučajno. Troglitazon (Slika 1(B)) je uveden u terapiju u Americi 1997. i predstavlja prvi lek na tržištu iz grupe glitazona. Iako su kliničke studije ukazivale na moguću hepatičnost i kardiotoksičnost, verovalo se da lek može da se koristi ako je funkcija jetre pod strogom kontrolom (6). Međutim, oštećenja jetre su u nekim slučajevima imala i letalni ishod, i lek je povučen iz upotrebe 2000. godine (7). Tokom 1999. na tržištu su se pojavila dva nova glitazona – pioglitazon i rosiglitazon (Slika 2). Oba leka su odobrena za monoterapiju ili kombinaciju sa metforminom, derivatima sulfonilureje ili insulinom. Noviji podaci ukazuju na preporuke Evropske i Britanske agencije za lekove da se rosiglitazon povuče iz terapije, jer su istraživanja i meta-analize ukazale da ovaj lek povećava faktore kardiovaskularnog rizika (8, 9).



A: 5-[[4-[2-(5-Etil-2-piridinil)etoksi]fenil]metil]-2,4-tiazolidindion
 B: 5-[[4-[2-(Metil-2-piridinil)amino]etoksi]fenil]metil]-2,4-tiazolidindion

Slika 2 Strukture pioglitazona (A) i rosiglitazona (B)

Molekularne osnove mehanizma dejstva

Tiazolidindioni su visoko selektivni egzogeni agonisti PPAR γ receptora (receptori aktivirani proliferatorom peroksizoma) koji kontrolišu osetljivost na insulin u mišićnom i masnom tkivu. Postoje tri podtipa ovih receptora lokalizovanih u jedru: alfa, gama i delta, a podtipovi alfa i gama su uključeni u regulaciju metabolizma lipida. PPAR α receptori su prisutni uglavnom u jetri, srcu, skeletnoj muskulaturi i zidovima krvnih sudova. PPAR γ receptori su lokalizovani u masnom tkivu, pankreasnim β -ćelijama, vaskularnom endotelu, makrofagama i skeletnoj muskulaturi gojaznih i dijabetičara (10). Ovi receptori grade heterodimer sa receptorom za 9-cis retinoinsku kiselinu (RXR). Kada se tiazolidindion veže za kompleks PPAR γ -RXR, on se strukturno menja, vezuje za DNK i dovodi do transkripcije gena, značajne za prenošenje signala posle vezivanja insulina za njegov receptor (11). PPAR γ receptori imaju centralnu ulogu u regulaciji diferencijacije adipocita. Ova diferencijacija vodi ka ekspresiji nekoliko različitih gena koji su uključeni u homeostazu glukoze i lipida. Na taj način se kontroliše diferencijacija masnih ćelija, povećava mitogeneza i preuzimanje masnih kiselina i glukoze.

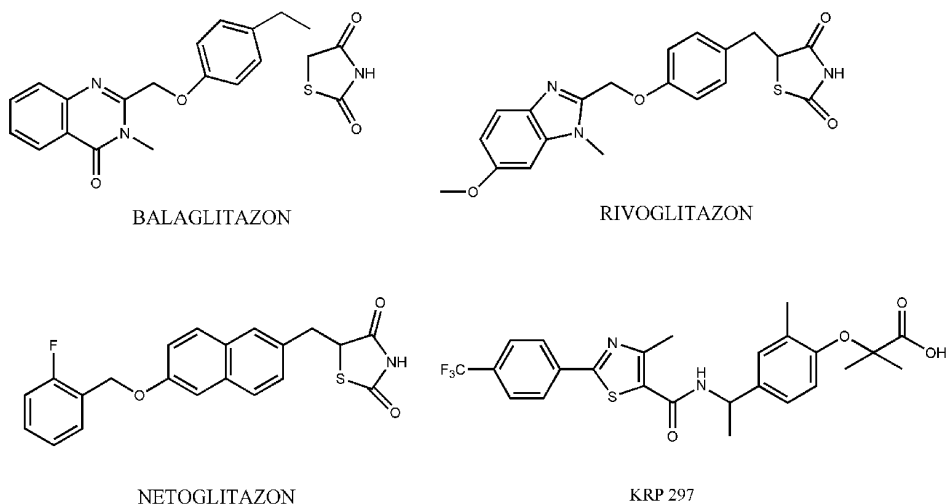
Struktura PPAR γ i dimera PPAR γ /RXR sa koaktivatorom SRC-1 (steroid receptor koaktivator) određena je kristalografski (12, 13). Svi PPAR receptori imaju džep za vezivanje liganda u obliku slova Y, a podtipovi γ i α imaju i dodatnu površinu za

vezivanje većih liganada. PPAR γ selektivni ligandi u strukturi većinom sadrže kiselu grupu (karboksilne grupe ili tiazolidindioni).

Interesantno je da različiti tiazolidindioni imaju različite efekte na α i γ podtipove PPAR receptora. Troglitazon i rosiglitazon su čisti PPAR γ agonisti, dok pioglitazon pokazuje i PPAR α efekte. Povećanje osetljivosti na insulin u masnom tkivu može se dovesti u vezu sa produkcijom adipokina aktivacijom PPAR γ receptora (14).

Tiazolidindioni u fazi kliničkih ispitivanja

Nekoliko novijih tiazolidindiona ispituju se kao dvojni PPAR agonisti koji bi mogli da se koriste u terapiji hiperglikemija i hiperlipidemija. U fazi kliničkih ispitivanja nalazi se više tiazolidindiona koji su pokazali dobru aktivnost na eksperimentalnim animalnim modelima (Slika 3).



Slika 3 Neki od novijih tiazolidindiona u fazi kliničkog ispitivanja

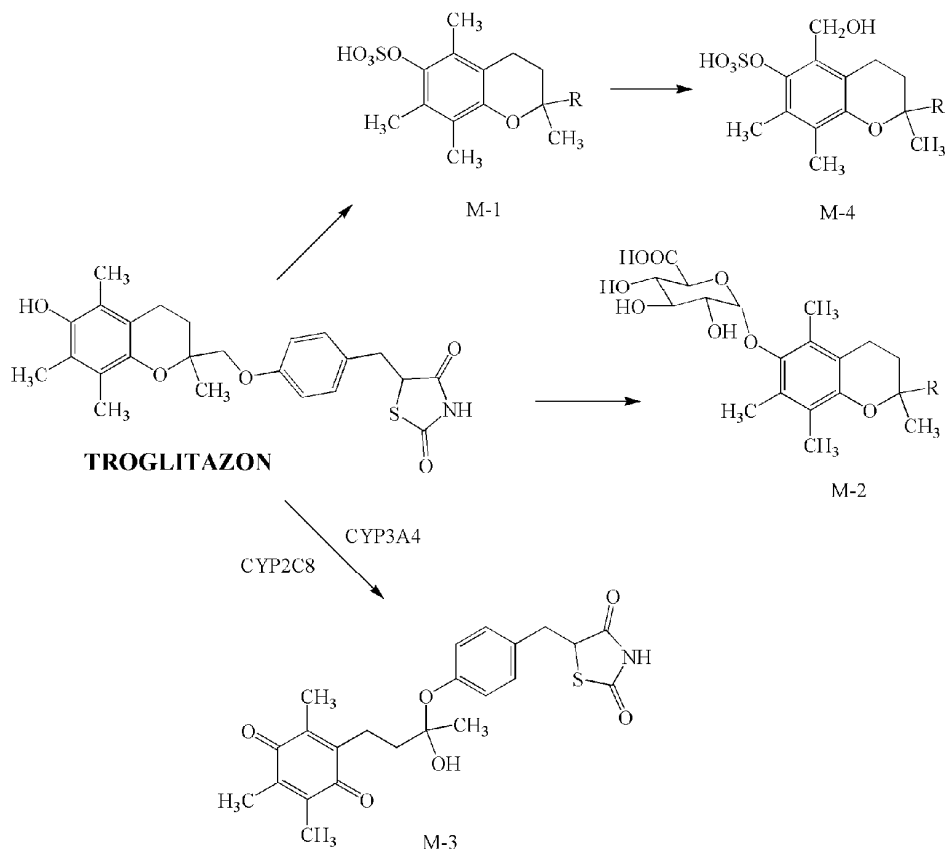
Jedan od tzv. dvojnih agonista, derivata tiazolidindiona je muraglitazar, sa povećanom incidencom kardiotoksičnosti (15). Drugi dvojni PPAR agonista je aleglitazar koji povoljno deluje kod poremećaja glikoregulacije i metabolizma masti, što se manifestuje normalizacijom vrednosti HbA1C, triglicerida, LDL i HDL holesterola. Obimnije i dugotrajnije studije ispitivanja potencijalne kardiotoksičnosti su u planu (16).

Biotransformacija

Dejstvo tiazolidindiona na glikemiju nastaje sporo, maksimalni efekat se postiže posle 1-2 meseca lečenja. Ovi lekovi se skoro u potpunosti apsorbuju, tako da se maksimalna koncentracija u plazmi postiže za oko 2 sata. Oko 99 % se vezuje za

proteine plazme. Podležu intenzivnom metabolizmu u jetri, sa svim metaboličkim promjenama na tiazolidinskom prstenu (oksidacija i otvaranje) ili susednoj aril grupi. Metaboliti se zadržavaju izuzetno dugo u cirkulaciji (rosiglitazon-150 sati, pioglitazon-24 sata).

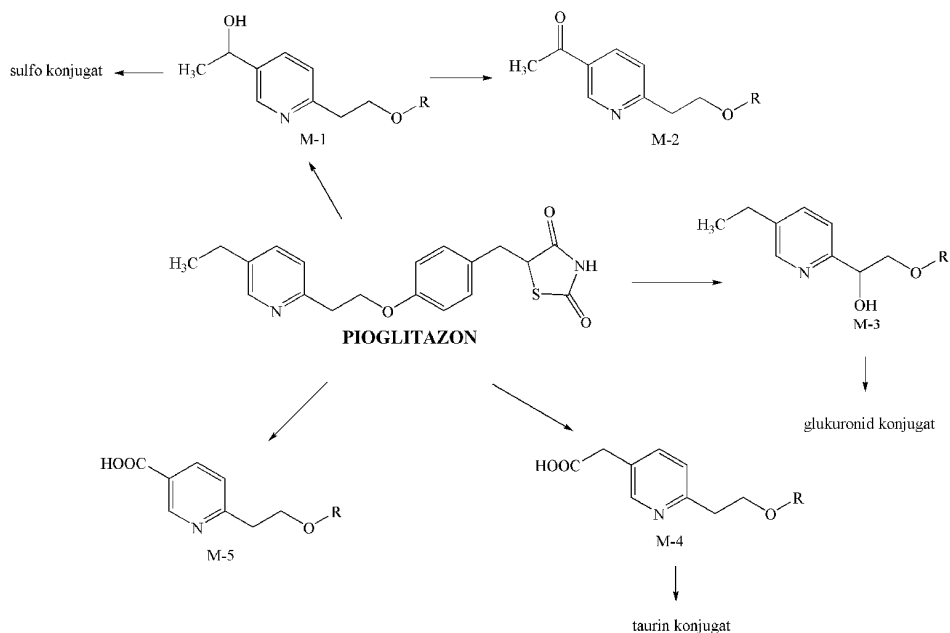
Tiazolidindioni su optički aktivni i u terapiji se koristi racemska smeša. Ustanovljeno je da enantiomeri racemizuju u biosredini, pa stereochemija nije značajna za njihovu aktivnost (17). Postoji veliko interesovanje za metabolizam troglitazona, jer se njegova hepatotoksičnost povezuje sa metabolitima. Metaboličke studije na životinjama ukazuju na prisustvo 4 metabolita, a glavni metabolit u humanom organizmu je sulfo konjugat metabolita M-1 (Slika 4). Smatra se da je metabolit tipa hinona (M-3) reaktivni intermedijer odgovoran za hepatotoksičnost (18).



Slika 4 Metabolizam troglitazona

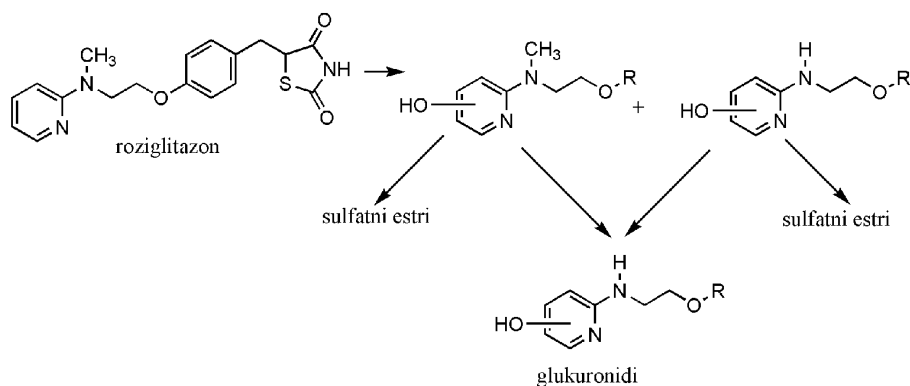
Pioglitazon metaboliše uglavnom preko CYP2C i CYP3A4 izoenzima (Slika 5). Detektovano je 8 različitih metabolita koji su rezultat hidrosilacije i oksidacije bočnog lanca piridina (19). Metaboliti pioglitazona se u obliku konjugata uglavnom eliminišu

putem žuči. Smatra se da metaboliti M-1, M-2 i M-3 doprinose biološkoj aktivnosti pioglitazona.



Slika 5 Metabolizam pioglitazona

Metabolizam rosiglitazona je ispitivan u humanom organizmu i utvrđeno je da metaboliše preko CYP2C8 do slabo aktivnih metabolita. Identifikovano je 14 metabolita koji su konjugati hidroksilovanih i N-demetilovanih proizvoda sa sulfonskom i glukuronskom kiselinom (20), a eliminišu se uglavnom putem urina (Slika 6). Smatra se da ovi metaboliti ne utiču na biološku aktivnost rosiglitazona.



Slika 6 Metabolizam rosiglitazona

Neželjena dejstva

Najčešća neželjena dejstva su hipoglikemija sa padom nivoa triglicerida, povećanje vrednosti HDL i LDL frakcija holesterola, porast telesne mase i retencija tečnosti. Telesna masa se na početku terapije povećava za 1-4 kg, a stabilizuje u toku 6-12 meseci. Porast telesne mase se može delimično objasniti retencijom tečnosti. Volumen plazme se povećava za oko 500 ml, uz istovremeno smanjenje koncentracije hemoglobina; uočen je i porast volumena ekstravaskularne tečnosti i povećano deponovanje potkožnog masnog tkiva (21). Retencija tečnosti predstavlja ozbiljan problem jer može da izazove ili pogorša insuficijenciju srca koja predstavlja kontraindikaciju za primenu ovih lekova. Neželjeni simptomi nepoznatog porekla uključuju glavobolju, zamor i GIT poremećaje.

U novijim epidemiološkim izveštajima pokazano je da postoji rizik od pojave kancera mokraćne bešike kod pacijenata koji su na terapiji pioglitazonom duže od 12 meseci. Pokazano je da primena tiazolidindiona približno dvostruko povećava rizik od spontanih fraktura kostiju, što dodatno ograničava upotrebu ovih lekova (22).

Tiazolidindioni su kontraindikovani u trudnoći, laktaciji, kod dece i oboljenja jetre.

Sadašnje mesto tiazolidindiona u lečenju dijabetes melitusa tipa 2

Tiazolidindioni se u SAD nalaze u kliničkoj primeni kao monoterapija ili u kombinaciji sa drugim oralnim hipoglikemicima u terapiji dijabetesa tipa 2 (rezistencija na insulin). U Evropi je kontraindikovana primena tiazolidindiona sa insulinom zbog mogućnosti povećanja rizika od insuficijencije srca. U Americi se, međutim, tiazolidindioni koriste i u kombinaciji sa insulinom.

Zbog dokaza o povećanom kardiovaskularnom riziku rosiglitazon je 2010. povučen iz prometa u Evropskoj uniji, a u SAD je njegova primena podvrgnuta strogim ograničenjima. U slučaju pioglitazona, FDA i EMA kao regulatorna tela u SAD i Evropskoj uniji, donela su odluku 2011. godine da je odnos koristi i rizika i dalje prihvatljiv za ograničenu populaciju pacijenata, te da se može i dalje primenjivati (22).

Prema registru iz 2011. na našem tržištu nema preparata sa tiazolidindionima (23).

Literatura

1. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Farmakologija. Peto izdanje. Beograd: Data Status, 2005: 386.
2. Lemke LT, Williams AD. Foyes Principles of Medicinal Chemistry. 6th ed: Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 855.
3. Lorenzati B, Zucco C, Miglietta S, Lamberti F, Bruno G. Oral Hypoglycemic Drugs: Pathophysiological Basis of Their Mechanism of Action. *Pharmaceuticals* 2010; 3: 3005-20.
4. Petersen KF, Krssak M, Inzucchi S, Cline GW, Dufour S, Shulman GI. Mechanism of troglitazone action in type 2 diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 827-31.

5. Kolak M, Yki-Jarvinen H, Kannisto K. Effects of chronic rosiglitazone therapy on gene expression in human adipose tissue *in vivo* in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 720-24.
6. Driscoll J, Ghazzi M, Perez J, Huang S, Whitcomb R. 96-Week follow up on cardiac safety in patients with type II diabetes treated with troglitazone. *Diabetes* 1997; 46 (1 Suppl): 149A.
7. Valiquett T, Huang S, Whitcomb R. Effects of troglitazone monotherapy in patients with NIDDM: a 6-month multicenter study. *Diabetes* 1997; 46 (1 Suppl): 43A.
8. Rosen CJ. The Rosiglitazone Story-Lessons from an FDA Advisory Committee Meeting. *N Engl J Med* 2007; 357: 844-46.
9. Singh S. Long-term risk of cardiovascular events with rosiglitazone: a meta-analysis. *JAMA* 2007; 298: 1189-95.
10. Park KS, Ciaraldi TP, Abrams-Carter L, Mudaliar S, Nikoulina SE, Henry RR. PPAR-gamma gene expression is elevated in skeletal muscle of obese and type II diabetic subjects. *Diabetes* 1997; 46: 1230-34.
11. Sternbach DD. Modulators of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs). *Annu Rep Med Chem* 2003; 38: 71-80.
12. Nolte RT, Wisley GB, Westin S, Cobb JE, Lambert MH, Kurokawa R, Rosenfeld MG, Willson TM, Glass CK, Milburn MV. Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Nature* 1998; 395: 137-43.
13. Gampe RT Jr, Montana VG, Lambert MH, Miller AB, Bledsoe RK, Milburn MV, Kliewer SA, Willson TM, Xu HE. Asymmetry in the PPAR γ /RXR α crystal structure reveals the molecular basis of heterodimerization among nuclear receptors. *Mol Cell* 2000; 5: 545-55.
14. Sharma AM, Staels B. Review: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and adipose tissue-understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 386-95.
15. Nissen SE, Wolski K, Topol EJ. Effect of muraglitazar on death and major adverse cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2005; 294: 2581-86.
16. Henry RR, Lincoff AM, Mudaliar S, Rabbia M, Chognot C, Herz M. Effect of the dual peroxisome proliferator-activated receptor-alpha/gamma agonist aleglitazar on risk of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes (SYNCHRONY): a phase II, randomised, dose-ranging study. *Lancet* 2009; 374: 126-35.
17. Vladimirov S, Živanov-Stakić D. Farmaceutska hemija II deo, Farmaceutski fakultet, Beograd, 2006: 124
18. Yamazaki H, Shibata A, Suzuki M, Nakajima M, Shimada N, Guengerich FP, Yokoi T. Oxidation of troglitazone to a quinone-type metabolite catalyzed by cytochrome P-450 2C8 and P-450 3A4 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1999; 27:1260-66.
19. Kreter PA, Colletti AE, Doss GA, Miller RR. Disposition and metabolism of the hypoglycemic agent pioglitazone in rats. *Drug Metab Dispos* 1994; 22: 625-30.
20. Cox PJ, Ryan DA, Hollis FJ, Harris AM, Miller AK, Vousde M, Cowley H. Absorption, disposition, and metabolism of rosiglitazone, a potent thiazolidinedione insulin sensitizer, in humans. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 772-80.
21. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Henderson G. Rang and Dale's Pharmacology. 7th ed. Spain: Elsevier, 2011: 381.
22. Savić M, Farmakologija oralnih hipoglikemijskih lekova, *Arh. Farm.* 2011; 61(4): 400-401.
23. Ivanović Lj. ur., Registar lekova 2011, BB-Soft, Beograd, 2011.

Thiazolidinediones – Mechanism of Action, Biotransformation and Side Effects

Olivera Čudina, Jasmina Brborić

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Institute of Pharmaceutical Chemistry,
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

Type 2 diabetes is a metabolic syndrome characterized by relative insulin deficiency, insulin resistance and increased hepatic glucose output. Medications used to treat the disease (hypoglycemic agents) are divided in seven distinct classes. One of those classes, thiazolidindiones („glitazones”), are known as insulin sensitizers and act mainly by improving peripheral uptake and utilization of glucose in muscle and fat, finally decreasing liver glucose production. These drugs activate one or more peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), which regulate gene expression in response to ligand binding. The thiazolidindiones differ by the nature of the groups attached to the 2,4-thiazolidindione nucleus. These agents are extensively metabolized with all metabolic changes occurring on thiazolidine ring or adjacent aryl group. Considerable interest in the metabolism of troglitazone exists, because hepatic toxicity may be associated with a quinone-type metabolite of troglitazone. Thiazolidindiones (rosiglitazone and pioglitazone) have been approved for monotherapy and combination therapy with metformin, sulfonylureas or insulin. Unfortunately, some studies and meta-analyses suggested that both drugs improve a number of cardiovascular risk factors and enhance incidence of heart failure.

Key words: Oral hypoglycemic drugs, Thiazolidinediones, PPAR agonists,
Type 2 diabetes

Efekti kozmetički aktivnih supstanci u tretiranju kože zahvaćene borama

Tatjana Sekulović¹, Gordana Vuleta², Snežana Savić²

¹ e-mail: tanjasekulovic@hotmail.com

² Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

Kratak sadržaj

Savremena naučna istraživanja vezana za proces starenja usmerena su ka fiziološkoj osnovi starenja, genetskim faktorima i uslovima sredine koji imaju uticaj na funkcionalnu sposobnost na svim nivoima: molekularnom, ćelijskom i organizma kao celine. Starost se danas posmatra kao zdrava, normalna i prirodna karakteristika ljudskog života, a najjednostavnije, starenje može da se definiše kao progresivno narušavanje fizioloških funkcija koje na kraju dovodi do smrti. Tačnu vremensku granicu početka starosti teško je postaviti, zato što se proces starenja kod različitih osoba odvija na različit način i uslovljen je genetskim i spoljašnjim faktorima. Konvencionalno se pod starošću smatra životno doba koje počinje oko 65. godine i završava se smrću. Starenje je kompleksan, prirodan proces koji dovodi do funkcionalnih i estetskih promena na koži, mekim tkivima, potpornim koštanim strukturama i u čitavom organizmu. Tokom vremena dolazi do pada funkcionalnih kapaciteta svih organskih sistema, smanjuje se vitalnost, slabi pokretljivost, smanjuju se bazalni i ukupni metabolizam, dolazi do gubitka zapremine i telesne mase tela, propadanja ćelija.

U ovom radu biće opisan proces starenja kože i promene koje se manifestuju u različitim slojevima kože; prikazane su neke od mnogobrojnih kozmetički aktivnih supstanci za koje su dokazani rezultati u tretiranju bora, kao i uobičajeni i često primenjivani neinvazivni postupci (procedure) koji se koriste u cilju popravljanja stanja kože zahvaćene borama.

Ključne reči: starenje kože, bore, kozmetički aktivne supstance, proizvodi za kozmetički tretman bora, preporuke za tretiranje bora

Starenje kože

Proces starenja određen je unutrašnjim i spoljašnjim faktorima. Na spoljašnje se može uticati, dok su unutrašnji genetski determinisani.

Unutrašnji faktori se odnose na biohemijske i hormonske procese koji su genetski određeni i dovode do ireverzibilne degeneracije kožnog tkiva. Tu spadaju različite histološke promene u slojevima kože: poravnavanje epidermo-dermalne granične površine, epiderm postaje tanji, smanjuje se brzina obnavljanja ćelija svih slojeva epiderma, gubitak dermalne papile, atrofija kože, smanjuju se debljina derma i broj melanocita i Langerhansovih ćelija u epidermu, broj fibroblasta u koži, krvnih sudova i masnih ćelija, a dolazi i do smanjenja elastičnog tkiva i proizvodnje kolagena tipa I i tipa III. Takođe, smanjuje se i debljina potkožnog masnog tkiva, a sve opisane promene dovode do opuštanja kože i pojave bora.

Unutrašnje (hronološko) starenje nastaje kod osoba starijih od 65 godina, a najmanje se primećuje na delovima tela koja su bila zaštićena od sunca. Promene koje se mogu uočiti na koži su: fino boranje, istanjena koža, suva koža praćena svrabom, opuštena (mlitava) koža, smanjena elastičnost, propadanje masnog tkiva, koje dovodi do udubljenja obraza i očiju (1-3).

Fotostarenje znatno ubrzava proces fiziološkog starenja. Predstavlja prevremeno starenje kože, koje je nastalo kao posledica izlaganja kože dejstvu UV zračenja. Promene se najviše uočavaju na koži koja je godinama bila nezaštićena: na licu, vratu, dekolteu i drugim otkrivenim delovima tela. Klinički posmatrano, takva koža je gruba, neelastična, suva, žućkaste boje, duboko izborana, sa proširenim kapilarima (**teleangiektazije**) i neujednačene pigmentacije (**pege i fleke**). Zapaženo je da koža mladih posle dužeg izlaganja solarijumu (UVA zraci) dobija znatno stariji i nezdrav izgled (2).

Na koži se tokom procesa starenja, koji je veoma intenzivan u periodu između 40-65 godine, događaju promene koje se savremenim metodama i tretmanima mogu ublažiti i usporiti, u cilju održavanja mladalačkog izgleda. Na neke faktore se može uticati promenom životnih navika, dok su neki faktori prirodno determinisani i na njih se ne može uticati (4). Kod žena u menopauzi dolazi do promena hormonskog statusa, opada proizvodnja estrogena, što se posebno odražava na epitelu kože i vagine. Zapaženo je da je kod žena koje su bile na hormonskoj supstitucionoj terapiji došlo do povećanja debljine epidermisa, povećanog stvaranja površinskih lipida, kao i promena u sastavu sfingolipida i na taj način je obezbeđena bolja hidratacija epidermisa. Primena hormona kao sastojaka kozmetičkih proizvoda je zabranjena u skladu sa Kozmetičkom direktivom i Uredbom EU 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima. Smatra se da bi fitoestrogeni mogli da budu zamena, pošto imaju slično, ali slabije dejstvo od estrogena i značajno manje neželjenih efekata (5).

Poznato je da pušenje ima negativne efekte na izgled kože. Pušači imaju karakterističnu bledu, žućkasto-sivu boju kože. Duboke linije i bore kod pušača nastaju tipično zrakasto po gornjim i donjim usnama i oko očiju. Koža deluje starije 10-20 godina u odnosu na kožu nepušača. Ispitivanjima je pokazano da pušenje dovodi do povećanja proizvodnje kolagenaze i značajnog smanjenja kolagena, što pogoduje nastanku bora (6).

Za usporavanje nastanka bora bitna je i hidratacija epiderma, jer usled starenja dolazi do gubitka vlage iz kože. Na vlažnost kože utiču komponente prirodnog vlažećeg faktora, sastav epidermalnih lipida, stanje površinskih slojeva kože. Potrebno je unošenje dovoljne količine tečnosti u organizam, kao i upotreba odgovarajućih kozmetičkih proizvoda koji mogu da povećaju vlažnost kože. Tokom procesa starenja, menja se i barijerna funkcija kože, tako da dolazi do promena u apsorpciji pojedinih supstanci. To može biti zbog opšteg smanjenja lipida u *stratum corneumu*. Koža postaje podložnija dejstvu mehaničkih trauma i nastanku infektivnih bolesti. Poznato je da *stratum corneum* predstavlja vezu između kože i spoljašnje okoline i odgovoran je za atraktivan izgled kože (7). Izlaganje dejstvu UV zračenja može da dovede do obrazovanja novih krvnih sudova, koji su veoma propustljivi i odgovorni za početak lokalne inflamacije. Klinički posmatrano, takva koža je gruba, neelastična, suva, žućkaste boje, duboko izborana, sa proširenim kapilarima (**teleangiektazije**), neujednačene pigmentacije (**pege i fleke**) (2,8). Usled starenja dolazi do gubitka funkcionalnih i morfoloških karakteristika ćelija sebacealnih žlezda, koje su zadužene za stvaranje sebuma i lubrikaciju površine kože. Ovaj gubitak se u početku nadoknađuje inicijalnom hipertrofijom, ali tokom vremena dolazi do smanjenja broja sebacealnih žlezda i smanjenja njihove sekretorne funkcije, što ima za posledicu smanjenje površinskih lipida i pojavu suvoće kože (**xerosis**). Ovakvo stanje kože je praćeno svrabom (**pruritus**) i može doći do razvoja **hroničnog ekcema** (8). Kod starijih osoba znatno je smanjena proizvodnja znoja, viša je unutrašnja temperatura kože, smanjena je osetljivost na toplotu. Fizičkom aktivnošću se može usporiti pad sekretorne funkcije znojnih žlezdi i poboljšati ukupna termoregulaciona funkcija (8).

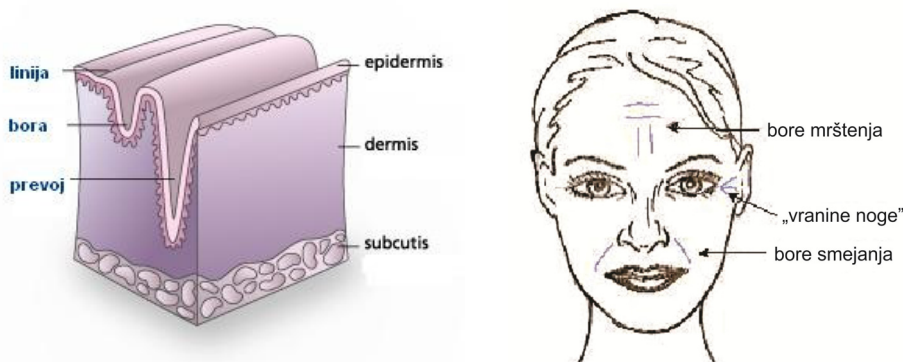
U koži se vrši i sinteza vitamina D. Smatra se da vitamin D ima ulogu u prevenciji karcinoma i drugih bolesti, kao i u očuvanju kostiju. Mišljenja stručnjaka su podeljena, kada je u pitanju način na koji treba obezbediti odgovarajuće količine vitamina D: izlaganje suncu i/ili unošenje vitamina oralnim putem u vidu dijetetskih proizvoda (suplemenata). Još uvek ne postoji saglasnost oko toga koja količina vitamina D je potrebna deci, a koja odraslima (9).

Zbog oslabljenog imuniteta, kod starijih osoba je smanjena otpornost prema gljivičnim i virusnim infekcijama, povećana je sklonost ka oboljevanju od karcinoma kože, smanjena je osetljivost kože na kontaktne alergene. Štetno dejstvo UV zračenja se

kod starih osoba ogleda u broju Langerhansovih ćelija i smanjenoj funkciji T-limfocita, a imunološke promene mogu da se ispolje lokalno i sistemski (10).

Bore

Iako je proces starenja kože dosta proučavan i opisivan u literaturi, precizna definicija bora ne postoji. Konkretan pokušaj definisanja se pripisuje Grifitu, koji je opisao da istežanje kože čitavom dužinom bora ostavlja linije koje predstavljaju osnovu za nastanak bora (11). Bore se mogu opisati i kao tanki nabori kože koji nastaju starenjem, dejstvom spoljašnjih i unutrašnjih činilaca. Primetne su na skoro svim delovima tela, ali najviše na licu (naročito na čelu, oko i između očiju, oko usana), vratu, rukama, nogama. Počinju da se pojavljuju oko 30-te godine života, a tokom godina se povećavaju po broju, dužini i zahvaćenoj površini. Na slici 1 dat je prikaz vrsta bora na licu.



Slika 1. Vrste bora na licu
Figure 1. Types of wrinkles on the face

Prevrtemene bore nastaju kao posledica načina života. Veliki uticaj ima preterano izlaganje dejstvu UVA i UVB zračenja poznato kao fotostarenje, nezaštićena koža, pušenje, konzumiranje alkohola, nedovoljni sati spavanja, neodgovarajuća nega kože, nagli gubitak telesne mase, rigorozne dijetе, što dovodi do opuštanja kože i pojave bora (12). Nastanak bora na koži lica se dešava i pod dejstvom kontrakcije mišića. Mlada koža se zbog svoje elastičnosti vrlo brzo vraća u prvobitnu poziciju posle kontrakcije mišića prilikom izražavanja emocija, kao što su smejanje, mrštenje, ljutnja. Smejanjem se obrazuju linije smejanja, a mrštenjem linije mrštenja, koje su najizraženije na čelu. Kontrakcijom mišića nastaju i bore između obrva i linije oko uglova očiju (često se nazivaju vranina noga, a nastaju i kao posledica dugotrajnog škiljenja i žmirkanja). Kod starijih osoba, posle kontrakcije mišića prilikom izražavanja emocija dolazi do zaostatka nabora i prevoja, što dovodi do nastanka statičkih bora. Dejstvo gravitacije dovodi do

još većeg, vidljivijeg opuštanja kože. Vremenom, izraz lica i uticaj gravitacije doprinose obrazovanju podvaljka i spuštenih očnih kapaka (12).

Kozmetički aktivne supstance u proizvodima za tretiranje kože sa borama

Hijaluronska kiselina (INCI: Hyaluronic Acid) identifikovana je još 1938. godine od strane Meyer-a i prvi put dobijena iz goveđeg staklastog tela oka, a zatim i iz drugih tkiva (kresta petla, pupčana vrpca, sinovijalna tečnost). Ime potiče od grčke reči *hyalos* (staklast) i uronske kiseline. Naziv je 1984. godine promenjen u *hyaluronan* (13).

Hijaluronska kiselina se u kozmetičkim proizvodima koristi u koncentraciji 0,025-0,05% (m/m). Njena molekulska masa je oko 800 kDa. Mnoge povoljne osobine hijaluronske kiseline su ograničene njenom velikom molekulskom masom, koja ne dopušta penetraciju u kožu, tako da ostaje na površini kože, gradi film i vrši hidrataciju površinskih slojeva kože. Na osnovu ovoga su sprovedene studije, gde su ispitivani molekuli manjih molekulskih masa i dokazana bolja efikasnost fragmenata hijaluronske kiseline, u cilju ublažavanja bora i hrapavosti kože (13). Kozmetički proizvodi u kojima je zastupljena hijaluronska kiselina su tzv. **anti-aging** proizvodi (serumi, gelovi, dnevni i noćni kremovi, maske) za negu kože lica u toku dana ili noći. Hijaluronska kiselina na koži stvara tanak, nepropustan film, koji sprečava transepidermalni gubitak vlage i na taj način vraća glatkoću i tonus koži.

Fileri sa hijaluronskom kiselinom se koriste za korekciju umerenih i jako izraženih bora (13,14). Zbog kratkog poluvremena eliminacije, hijaluronska kiselina se hemijski stabilizuje umrežavanjem, povezuje se u makromolekule i na taj način se produžava poluvreme njene eliminacije. Punioci su slabo imunogeni, ali ponekad može doći do alergijskih reakcija koje nastaju zbog hemijskog jedinjenja koje se koristi za umrežavanje (14).

Prva racionalna upotreba **proteina** datira od 1950. godine. Proteini su jedinjenja koja ulaze u sastav kose, kože i nokata (dominantno kolagen, elastin i keratin), a narušavanje njihovog odnosa dovodi do estetskih promena na koži u vidu dehidracije, nastanka bora, atonije. Od proteina se u kozmetičkim proizvodima najviše koristi **kolagen**, sam ili u kombinaciji sa elastinom. Posle upotrebe kremova sa kolagenom, koža je prijatna na dodir, nežna, somotasta, hidratizana, povećane elastičnosti, a dobro ga podnosi bilo koji tip kože. Kolagen se može ubrizgati u kožu u obliku injekcija.

Upotrebljavaju se i **biljni proteini**, zbog trenda povratka prirodnim izvorima sirovina i izbegavanja sirovina životinjskog porekla. Hidrolizovani pšenični proteini, hidrolizovani proteini ova, proteini semena pirinča, graška, sojinih klica, proteini algi, kada se primene u obliku kozmetičkih kremova i losiona, obrazuju film na koži, obezbeđuju vlažnost, povećavaju elastičnost i stvaraju osećaj mekoće na koži (15-17).

Atraktivne sastojke kozmetičkih proizvoda čini grupa malih peptida koji se još nazivaju i **biomimetički peptidi**. Ova grupa peptida reguliše aktivnost važnih bioloških procesa u koži koji su često povezani sa starenjem kože. Peptidi su podeljeni u četiri grupe: signalni peptidi, peptidi inhibitori enzima, peptidi inhibitori neurotransmitera i peptidi nosači. Smatra se da signalni peptidi stimulišu proizvodnju matriksnih proteina, a naročito sintezu kolagena. Zapaženo je da povećavaju proliferaciju fibronektina, glikozaminoglikana, elastina i proteoglikana i na taj način povećavaju čvrstinu i obezbeđuju mlađi izgled kože (18). Pri formulaciji kozmetičkog proizvoda za ublažavanje postojećih bora i usporavanje procesa starenja kože, važno je proceniti sve faktore koji mogu da utiču na kvalitet krajnjeg proizvoda: penetraciju kroz kožnu barijeru, stabilnost (peptidi su izrazito nestabilni, naročito u vodenoj sredini), lokalnu podnošljivost (supstance peptidne strukture mogu uzrokovati alergijske reakcije), mogućnosti ispitivanja kvaliteta i efikasnosti i cenu.

Palmitoil pentapeptid poznat je pod komercijalnim nazivom (**Matryxil®**), INCI: Palmitoyl Pentapeptide, i dobija se sintetičkim putem. Prolazak peptida kroz epidermalnu barijeru omogućen je zahvaljujući prisustvu palmitinske kiseline, jednog od glavnih lipida *stratum corneuma*. Sprovedene studije su pokazale da primenom ovog peptida dolazi do ublažavanja postojećih bora, povećanja glatkoće i elastičnosti kože, a ne dolazi do iritacije kože (12). Preporučene koncentracije za primenu u kozmetičkim proizvodima su između 2 i 8 ppm.

Argirelin (heksapeptid), INCI: Acetyl Hexapeptide-8, predstavlja bezbedniju, blažu i jeftiniju alternativu botulin toksinu. Argireline™ je vodeni rastvor heksapeptida-8, koji ima relaksirajuće efekte na muskulaturu lica. Kada se primeni u obliku kremova, može da ometa hemijske signale za kontrakciju mišića, da smanji oslobađanje kateholamina (adrenalina i noradrenalina), čije preveliko stvaranje dovodi do obrazovanja linija i bora (12). U kozmetičkim proizvodima Argirelin™ se koristi u koncentraciji 3-10%.

Ciklični peptidi su poznati pod INCI: Cyclopeptide-5. Predstavljaju grupu malih peptida, koje karakteriše homogenost strukture, visoka selektivnost za receptor i pojačana metabolička stabilnost. Sve kovalentne veze između amino kiselina su prirodne peptidne veze. Ovako sintetisan peptid je visoko selektivan i može da imitira prirodne procese u koži. Sprovedene studije na ispitanicima pokazale su da dolazi do značajnog povećanja glatkoće kože posle primene emulzije sa 4% ciklopeptida-5, u odnosu na placebo emulziju. Bolja penetracija u kožu postiže se inkapsulacijom peptida u liposome. Ispoljava sledeća pozitivna dejstva: specifične ligand-receptor interakcije, visoku stabilnost, podržava i štiti proteine ekstracelularnog matriksa protiv enzimske degradacije (19).

Bakarni tripeptidi (INCI: Cooper peptide) spadaju u grupu biološki aktivnih regulatornih peptida. Ispitivanjima je potvrđeno da primenom na oštećenu kožu

ostvaruju regenerativno dejstvo. Zbog toga se koriste u obliku kremova kod ekcema, u dermoabraziji i drugim hirurškim intervencijama. Povoljne rezultate ostvaruju primenom u tretiranju akni, ožiljaka, fleka, pega, bora, kod oštećenja nastalih dejstvom sunčevog i ostalih zračenja. Nanošenjem na kožu u obliku kremova dovode do stimulacije sinteze glikozaminoglikana, metaloproteinaza, kolagena, elastina, stimulacije dejstva superoksid dizmutaze, obrazovanja ekstracelularnog cementa, što dovodi do povećanja čvrstine i zategnutosti kože, kao i do smanjenja sitnih bora. Pošto su stabilni, mogu se koristiti u kozmetičkim preparatima zajedno sa hidroksi kiselinama (12).

Humani faktor rasta (HFR) je odobren od FDA (Food and Drug Administration) za kozmetičku primenu. Ostarele ćelije kože koriste HFR i vraćaju se u mlađi stadijum, kroz angiogenezu i proizvodnju kolagena, posebno u predelu lica. Istraživanja su pokazala da lokalna primena HFR-a na delove tela koji imaju oštećenja nastala opekotinama, ranama ili hirurškim putem, povećava stepen izlečenja. FDA je odobrila primenu HFR u kozmetičkim proizvodima, zato što se prirodno nalazi u telu, kao parakrine i autokrine supstance, a ne kao endokrine. Dosadašnji podaci potvrđuju da HFR primenjen u obliku kremova dovodi do smanjenja bora i popravljiva fotooštećenu kožu, bez neželjenih efekata (20). U zemljama EU je upotreba humanih materijala u kozmetici zabranjena, pa samim tim i upotreba HFR, shodno Kozmetičkoj direktivi i Uredbi EU 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima. Tehnologija proizvodnje HFR-a nije zaživela u značajnijoj meri, prvenstveno zbog problema koji se odnose na visoke troškove proizvodnje, stabilnost i prečišćavanje dobijenog materijala.

Vitamini ostvaruju različite povoljne efekte na koži, kao što su poboljšanje celokupnog izgleda, posvetljivanje pigmentacija i oštećenja izazvana različitim sredstvima, imaju antioksidativno dejstvo (neutrališu slobodne radikale u koži). Ispitivanja su pokazala da su neki vitamini u prevenciji ostarele kože jednako korisni i pri lokalnoj i pri sistemsnoj primeni. Merljivi rezultati se postižu dugotrajnom upotrebom kozmetičkih proizvoda sa vitaminima, posebno A i E. Pri izradi kozmetičkih proizvoda koji sadrže vitamine, postoji problem u stabilizaciji nestabilnih oblika vitamina A i C. Rešenje se postiže pravilnim izborom pomoćnih supstanci, primenom koloidnih nosača (liposomi, niosomi, nanočestice), posebnim tehnikama izrade proizvoda i upotrebom odgovarajuće ambalaže. Ona štiti vitamine od oksidacije i UV zračenja, posebno kozmetičkih proizvoda sa vitaminom A, odnosno retinolom i retinilaldehidom (11,21,24).

Upotreba **retinoida** u obliku kremova, predstavlja standard u tretmanu znakova ostarele kože. Retinoidi ispoljavaju efekte na receptore i ekspresiju gena, smanjuju stvaranje kolagenaze i stimulišu sintezu novog kolagena. Pozitivni rezultati su brže vidljivi kada su u pitanju plitke, površinske bore, dok je za duboke bore potrebno vreme od nekoliko nedelja i meseci. Pored brojnih pozitivnih, imaju i neželjene efekte -

retinoidni dermatitis, koji se na koži može manifestovati u vidu svraba, peckanja, eritema i pojave suve kože. Kremovi koji sadrže vitamin A (retinol, retinil aldehid), poboljšavaju teksturu i boju kože, sprečavaju produbljivanje finih bora (21, 22).

Vitamin B3 se u kozmetičkim proizvodima koristi poslednjih godina. Potvrđeno je njegovo dejstvo protiv zapaljenja i u tretmanu akni. Stimuliše proizvodnju kolagena i na taj način učestvuje u smanjenju postojećih bora na koži i poboljšava njenu elastičnost. Primenjuje se u koncentraciji 3,5%-5% u obliku kozmetičkih emulzija, a nisu zabeležene iritacije na koži posle primene (21).

Kao kofaktor, **vitamin C** je uključen u sintezu kolagena, tako da ima preventivnu ulogu u starenju kože, poboljšava tonus i elastičnost. Zbog izražene nestabilnosti vitamina C u preparatima za negu kože i posle sunčanja, koriste se neki derivati vitamina C (23). Uobičajene koncentracije u kozmetičkim *anti-age* proizvodima su 0,2%-2%, a u proizvodima za posvetljivanje hiperpigmentacija 3%-5% (23).

Dokazano je da primena **vitamina E** na koži dovodi do pozitivnih efekata u sprečavanju nastanka bora, kao i ublažavanju postojećih bora. Pomaže obnavljanje kože, stvara vlažnu barijeru i sprečava lipidnu peroksidaciju kolagena. Osim α -tokoferola, u kozmetičkim proizvodima koristi se i njegov estar (najčešće tokoferil acetat), koji je hemijski stabilniji, ali i manje efikasan od vitamina E (24). Preporučena koncentracija vitamin E acetata je 1-10%, a ispitivanjima je dokazano da najbolji efekat na koži ostvaruje u koncentraciji od 5% (24).

Hidroksi kiseline ostvaruju pozitivne efekte na koži i sastojci su brojnih proizvoda za negu kože (*anti-age* kremovi), preparata za hemijski piling i tretiranje kože sa aknama, posvetljivanje hiperpigmentacija i posebno za redovnu negu, tj. dobru hidrataciju kože, posle sprovedenih kozmetičkih procedura. Najviše se koriste **α -hidroksi kiseline (glikolna), β -hidroksi kiseline (salicilna), polihidroksi kiseline i bionske kiseline**. Novije polihidroksi kiseline su **glukonolakton i laktobionska kiselina**, koje se primenjuju i na osetljivoj koži, bez pratećih neželjenih reakcija (22, 25). Alfa-hidroksi kiseline (AHAs), dominantno glikolna kiselina u kremovima za negu kože u toku dana i noći, zadržavaju vlažnost, povećavaju gustinu epiderma, vrše ujednačavanje tona kože (korekcija hiper- i hipopigmentacija), poboljšavaju elastičnost, smanjuju hrapavost i bore na fotoostareloj koži. Efekti AHAs zavise od koncentracije u proizvodu: do 3% menjaju pH na površini kože, dok u koncentraciji od 10% menjaju pH i u dubljim slojevima kože. Pri izvođenju hemijskog pilinga sa glikolnom kiselinom, koncentracija kiseline u proizvodu (najčešće u obliku gela ili rastvora), kreće se od 30% do 70%.

Biljni masni sastojci u kozmetičkim proizvodima za tretman bora

Fitosteroidi (fitoestrogeni) dobijaju se ekstrakcijom iz različitih biljaka i biljnih ulja i koriste se najčešće za negu starije kože. Nalaze se u jojobinom ulju, ši buteru, ulju slatkog badema, makadamija ulju, avokadovom ulju (26, 27). U kozmetičkim proizvodima zastupljeni su kao sastojci masne faze kremova za negu suve i starije kože. Popravljaju elastičnost i kožnu barijeru.

Ši buter (INCI: Butyrospermum Parkii) je masni sastojak mnogih kremova za dnevnu ili noćnu negu, posebno kože lica. Povećava elastičnost kože, ublažava bore, povećava penetraciju nekih aktivnih supstanci, a na koži stvara zaštitni film i obezbeđuje hidrataciju površinskih slojeva (23,27).

Jojobino ulje (INCI: Simmondsia chinensis) po sastavu je slično sebumu kože i lako penetrira u kožu, zadržava vlažnost, ispucalu i hrapavu kožu čini mekom i glatkom, a nema komedogeno i senzibilizujuće dejstvo. Dokazano je da smanjuje površne bore, a primenjuje se u tretmanu suve kože (23).

Ostale kozmetičke sirovine za tretman bora

Antioksidansi u kozmetičkim proizvodima se uključuju u borbu protiv slobodnih radikala, koji nastaju u toku oksidativnog stresa i mogu da oštete ćelijske strukture kože i dovedu do pojave bora. Od antioksidansa pored tokoferola i polifenola, široku primenu ima i **koenzim Q10** ili ubihinon (INCI: Coenzyme Q10), zbog čega je veoma čest sastojak kozmetičkih proizvoda za tretman bora. Utvrđeno je da štiti ćelijsku membranu od oštećenja koja mogu nastati dejstvom UVA zračenja, štiti fibroblaste i sprečava nastanak bora, isključivo nakon dugotrajne primene kozmetičkih proizvoda sa ubihinonom. Primenjuje se u koncentraciji 0,001-0,1% u kozmetičkim emulzijama za lice i telo (11, 23).

Piknogenol/Pycnogenol (INCI: Pinetree extract): Procianidin iz kore bora, prirodni antioksidans jakog dejstva koji produžava dejstvo vitamina A i E. Ekstrakti kore bora su efikasni u zaštiti kože od eritema indukovano UVB zračenjem, a posle primene na koži mogu da uspore proces starenja (11).

Ursolinska kiselina (INCI: Ursolic Acid) je prisutna u mnogim biljkama (lavanda, ruzmarin, borovnica, jabuka, cvet zove, glog, ribizla, šljiva). Izaziva revitalizaciju kože zbog antioksidativnog dejstva i štiti ćelije kože od oštećenja (11).

Rezveratrol/Rezveratorol (INCI: Resveratrol Ferment Extract) se prirodno nalazi u crvenom grejpfrutu, bobičastom voću, crnom grožđu. Deluje sinergistički sa vitaminima C i E. Potvrđeno je da kada se primeni na koži može da inhibira neke proteaze koje imaju degradirajuće dejstvo na proteine i matriks dermisa. Rezveratrol (čist) ili u obliku ekstrakta ispoljava antioksidativni efekat na različitim strukturama kože, obnavlja fibroblaste i usporava proces starenja (11).

Ekstrakt runolista (INCI: *Leontopodium alpinum extract*) ima jako antioksidativno dejstvo, neutrališe slobodne radikale i obezbeđuje zaštitu kože, pre i posle izlaganja dejstvu UV zračenja. Primenjuje se u obliku ekstrakata u različitim kozmetičkim proizvodima za negu kože, a posle dugotrajne upotrebe vidljivi su pozitivni efekti na koži lica (12).

Ekstrakt zelenog čaja (INCI: *Camelliae sinensis extract*) usporava proces starenja kože, deluje emolijentno, smanjuje perutanje i deskvamaciju površinskih slojeva kože. Sadrži polifenole i dodaje se kozmetičkim proizvodima za negu i zaštitu kože, zbog antioksidantnog delovanja (12).

Rhaponticum carthamoides (maral root) ili koren sibirskog jelena sadrži kao aktivne sastojke ekdisteroide, uglavnom 20-hidroksiekdison (ekdisteron). Frakcija koja je izolovana iz ovog korena je bogata fitoekdistteroidima i koristi se kao nova kozmetički aktivna supstanca u proizvodima koji vraćaju koži izgubljenu čvrstinu i elastičnost (28).

Zizyphus spinosa (žičula, kineska datula) koristi se u tradicionalnoj kineskoj medicini. Za ublažavanje procesa starenja kože koristi se seme ove biljke, iz koga se pripremaju ekstrakti koji sadrže triterpenske derivate (28). Sinergistička kombinacija triterpenskih derivata kineske datule i fitoekdisteroida korena sibirskog jelena je proizvod Zirhafirm™, u obliku kremova, čijom upotrebom dolazi do jačanja dermalno-epidermalnih veza, vraća se elastičnost i čvrstina koži. Zirhafirm™ spada u intenzivan tretman za zrelu i opuštenu kožu.

DMAE (dimetilaminoetanol) je po strukturi sličan holinu. Prirodno se nalazi u lososu, sardini, inćunu, a u maloj količini i u ljudskom mozgu. Postao je popularan sastojak *anti-age* kozmetičkih proizvoda, sa dokazanom efikasnošću i bezbednošću. Primećeno je da kremovi sa DMAE povećavaju snabdevanje kože acetilholinom i tako poboljšavaju njenu zategnutost i čvrstinu. Ima antioksidativno dejstvo, funkciju stabilizujućeg faktora ćelijske membrane i sprečava dehidraciju kože. Navodi se da posle duže upotrebe preparata sa DMAE koža postaje zategnuta i sa ublaženim borama (29,30).

U Tabeli I prikazani su najvažniji sastojci iz prve, druge i treće generacije kozmetički aktivnih supstanci koji se pojedinačno ili u kombinaciji koriste u proizvodima za tretman bora (31).

Tabela I Anti-aging sastojci (31)**Table I** Anti-aging ingredients (31)

PRVA GENERACIJA	DRUGA GENERACIJA	TREĆA GENERACIJA
<ul style="list-style-type: none"> ▪ VITAMINI A, C, E ▪ KOENZIM Q10 ▪ ALFA LIPOINSKA KISELINA ▪ FLAVONOIDI ▪ FITOESTROGENI 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FAKTOR RASTA ▪ BAKARNI TRIPEPTID ▪ PALMITOIL PENTAPEPTID ▪ N6-FURFURILADENIN 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ DMAE (DIMETILAMINOETANOL) ▪ ACETIL HEKSAPEPTID 3

Kozmetički proizvodi za tretman bora

Na svetskom tržištu, a i u Srbiji, dostupan je ogroman broj kozmetičkih proizvoda za tretman bora. Najčešće se proizvode u obliku kremova za negu kože preko dana i noći i često sadrže veći broj kozmetički aktivnih supstanci, koje su navedene u Tabeli I (31).

NeoStrata Renewal Cream, Neostrata, SAD (Neostrata krem za obnavljanje) sadrži kao kozmetički aktivne supstance **glukonolakton** i **pro-retinol**, koji deluju sinergistički i dovode do poboljšanja teksture kože, veličine pora i ujednačenosti boje. Redukuje fine linije i bore, poboljšava izgled neujednačenih pigmentacija i oštećenja od sunca i nije komedogen (32).

Laboina, Labo Cosprophar, Švajcarska, kozmetički je proizvod u obliku emulzije koji sadrži novu kombinaciju aktivnih sastojaka, čija su INCI imena: **Acetyl Dipeptide-1 Cetyl Ester, Pentapeptideamide-4, Acetyl Octapeptide-3, Acetyl Octapeptide-30**. Primenjuje se spolja, na neinvazivan način, uz pomoć aplikatora u kome se nalazi proizvod. Dovodi do uvećanja broja fibroblasta i keratinocita, što pomaže u popunjavanju bora (iznutra, u dermu) i ublažava bore spolja (na nivou epiderma i rožnatog sloja). Mlado tkivo, koje stvaraju nove ćelije popunjava bore (33).

Densitium® krem 45+, SVR laboratorija, Francuska, sadrži kao kozmetički aktivne sastojke **bio-kalcijum** (kompleks kalcijuma koji ima važnu ulogu u održavanju strukture kože) i ultra **fragmentisanu hijaluronsku kiselinu** (hijaluronska kiselina sa malom molekulskom masom, koja brže i dublje prodire u kožu). Primenjuje se ujutro i uveče, na lice i vrat, a pogodna je i kao podloga za šminku. Posle upotrebe koža postaje glatka, hidrirana, a postojeće bore postaju manje vidljive.

Neostrata Bionic Face Cream, Neostrata, SAD (Neostrata serum za lice sa bionskom kiselinom) kao kozmetički aktivne supstance sadrži: **Lactobionic Acid, Retinyl (vitamin A) Palmitate, Tocopheryl (vitamin E) Acetate, Tetrahexyldecyl (vitamin C) Ascorbate**. Upotrebom ovog proizvoda dolazi do poboljšanja teksture

kože, ublažavanja postojećih bora, boljeg vlaženja kože. Preporučuje se kao nega posle kozmetičkih i estetskih procedura.

Preporuke kozmetologa za tretiranje bora

Savremeni koncepti u prvi plan ističu prevenciju kao delotvorniju od terapije. Zato sa negom kože i primenom odgovarajućih tretmana treba početi na vreme, kako bi i posle 40-te godine koža izgledala zdrava i lepa (34). Tretmani mogu da poboljšaju izgled i uspore starenje, ali je starenje proces koji ne može da se zaustavi. Na raspolaganju su različite metode koje odlažu pojavu znakova starenja: **anti-age kozmetički preparati** (za svakodnevnu negu zrele kože), **preparati za piling** (ljuštenje površinskih slojeva kože), **implantati** (ubacivanje određenih materija u kožu), **invazivnije metode** iz domena plastične hirurgije. Pri izvođenju procedura, važna je bezbednost za korisnika (poštovanje određenih protokola), stručnost osobe koja vrši procedure i što brže vraćanje uobičajenim aktivnostima, posle sprovedenog postupka. U ovom delu rada biće kratko opisani neki postupci koji se koriste u cilju tretmana kože zahvaćene borama, uz redovnu negu i zaštitu kože, pre i posle ovih procedura, primenom odgovarajućih kozmetičkih proizvoda.

Hemijski piling je procedura kojom se određenim hemijskim supstancama skidaju slojevi kože, sa ciljem da se poprave njeni nedostaci i oštećenja. Piling se prema intenzitetu-dubini ljuštenja deli na: površinski, srednje duboki i duboki. Pored lica, koje se i najčešće tretira, može se obaviti i na rukama, naročito na šakama, dekolteu, leđima, ramenima. Dolazi do regeneracije u dubljim strukturama kože, smiruju se zapaljenski procesi, koža se manje masti, postaje podmlađena. Efikasnost ovog tretmana najviše se ogleda u poboljšanju bora, kod fotooštećene kože, proširenih pora, keratoza, smanjenju ožiljaka od akni, izbeljivanju fleka, osvežavanju-ulepšavanju lica. Tokom tretmana i nekoliko sati posle toga moguća je pojava peckanja, crvenila, perutanja koje može da traje nekoliko dana. Obavezna je upotreba krema sa visokim zaštitnim faktorom od UV zračenja, izbegavanje sunčanja, a najbolje je hemijski piling obavljati tokom jeseni i zime. Ove procedure je potrebno ponoviti više puta u određenim vremenskim intervalima. Proceduru obavljaju isključivo lekari koji imaju potrebne sertifikate i dozvole za rad! (35).

Mikrodermoabrazija predstavlja mehanički piling, gde se na neinvazivan način vrši uklanjanje površnog sloja kože, tj. izumrlih ćelija *stratum corneum-a*. Može se primeniti i kod mlađih i kod starijih osoba, a posle tretmana je vidljiv rezultat: dolazi do poboljšanja teksture kože, smanjuju se proširene pore, površni ožiljci, hiperpigmentacije, reguliše se masnoća kože, smanjuju se sitnije linije i bore, poboljšavaju se oštećenja nastala dejstvom UV zraka. To je komforna, pouzdana metoda kojom je moguće vršiti kontrolisanu abraziju kože, upotrebom dijamantskih sondi ili kristala aluminijum-oksida, uz određenu brzinu i broj prelaza preko tretirane

kože. Kristali se putem blagog vakuma utiskuju direktno kroz površinu kože, usisavaju i odstranjuju mrtve epitelne ćelije i lojne čepove. Može se koristiti na licu, leđima, rukama, vratu. Posle tretmana koža je čista, glatka, osvežena, a osobe mogu odmah nastaviti svoje aktivnosti (12).

Dermalni punioci (fileri) sa hijaluronskom kiselinom se primenjuju injekcionim putem, tj. intradermalno se ubrizgava hijaluronska kiselina. Injekcije hijaluronske kiseline se koriste u cilju poboljšanja konture lica, da ublaže ulegnuća nastala starenjem, da koriguju umerene i izražene bore, za nadoknadu gubitka mekog tkiva, najčešće u donjoj trećini lica, gde su ove promene oblika najvidljivije. Dužina dejstva filera je od 6 do 12 meseci. Posle toga se procedura može ponoviti. Ovi punioci su bezbedni i slabo imunogeni, bez rizika od alergijskih reakcija (14, 36).

Injekcije kolagena se aplikuju u gornju površinu odgovarajućeg sloja kože i na taj način se vrši nadoknada izgubljenog kolagena. Kolagen je prirodni protein koji se nalazi u organizmu i učestvuje u formiranju vezivnog tkiva. Ima ulogu u vezivanju vode, održava vlažnost i obezbeđuje čvrstinu kože. Tokom godina dolazi do gubitka kolagena u koži. Jedan od načina da se uspori proces starenja i ublaže bore na koži je upotreba prečišćenog kolagena koji se u kožu unosi injekcionim putem. Ovim tretmanom se postiže korigovanje postojećih bora (12).

Injekcije masti se primenjuju procedurom koja može da pomogne u održavanju mladolikog izgleda, popunjavanju bora, jedrine kože. Mast može da se skupi iz tela osobe kojoj se vrši procedura, posle čega se obrađuje i prečišćava, a zatim uz upotrebu igle ubrizgava u kožu (12).

Mezoterapija se koristi u mnogim medicinskim granama, ali je najpoznatija njena primena u estetske svrhe. Prvi je počeo da je primenjuje francuski lekar Pistor 1952. godine, koristeći injekcije na dubinu od 3-5 mm, kojima je u mezoderm unosio određene lekovite supstance. Mezoterapija se sastoji u aplikovanju određenih „koktela” u kožu injekcionim putem. Vidljivi su rezultati u smanjenju masnih naslaga, celulita, kod opadanja kose, lečenja akni, fleka, ožiljaka, podmlađivanja lica, gde koža postaje vidno hidrirana, osvežena, a bore ublažene. Procedura se sprovodi po određenim protokolima i potrebno je uraditi tretmane u seriji, a zatim ponoviti kroz određeno vreme. Metoda je pouzdana i sa malo neželjenih efekata koji prolaze za nekoliko dana (37).

Zaključak

Proces starenja praćen je širokim spektrom fizioloških promena koje ograničavaju normalno funkcionisanje organizma. Promene se dešavaju na svim organima i sistemima, ali je danas pažnja dosta usmerena na spoljašnji izgled, gde se čak smatra da su bore i ostale odlike ostarele kože nedopustivi, i pokazatelji su da osoba ne vodi dovoljno računa o sebi.

Prateći trendove i zahteve savremenog načina života, mnoge kozmetičke kompanije uvode u svoj proizvodni asortiman nove kozmetički aktivne supstance, a za neke od njih je ispitivanjima dokazano pozitivno dejstvo u tretiranju kože zahvaćene borama. U radu su navedeni podaci iz literature o najčešće korišćenim kozmetički aktivnim supstancama koje su česti sastojci proizvoda za tretman lica sa borama. Na polju estetske hirurgije i estetske dermatologije ubrzano dolazi do razvoja novih tehnika u sprečavanju nastanka bora i usporavanju procesa starenja. Postoje **anti-age** protokoli u koje su pored redovne nege i održavanja uključeni koncepti zdrave ishrane, redovne fizičke aktivnosti, vođenje kvalitetnog i sadržajnog načina života, mentalna i emotivna ravnoteža.

U svetu i kod nas, insistira se na neinvazivnim, neagresivnim metodama u cilju podmlađivanja i odlaganju estetskih operacija za kasnije godine, kao što su: hemijski piling, dermalni punioci, mikrodermoabrazija, mezoterapija i druge. Ističe se da sam postupak estetske korekcije traje kratko, da se ljudi posle njih vraćaju svojim obavezama, a da su rezultati vidljivi ubrzo posle tretmana.

Literatura

1. Plečaš B, Živković L, Potparević B. Biologija i fiziologija starenja. Arhiv za farmaciju 2009; 59: 357-372.
2. Isailović G. Fiziologija kože sa starenjem. Isailović G, 2006: 87-128.
3. Callaghan TM, Wilhelm KP. A review of ageing and an examination of clinical methods in the assessment of ageing skin. Part II: Clinical perspectives and clinical methods in the evaluation of ageing skin. *International Journal of Cosmetic Science* 2008; 30: 323-332.
4. Čajkovac M. Kozmetologija. Jastrebarsko: Naklada Slap, 2000: 57-60.
5. Pepić I, Sinovčić T, Filipović-Grčić J. Hormonsko starenje kože. Farmaceutski glasnik 2011; 67 (1): 11-26.
6. Callaghan TM, Wilhelm KP. A review of ageing and an examination of clinical methods in the assessment of ageing skin. Part I: Cellular and molecular perspectives of skin ageing. *International Journal of Cosmetic Science* 2008; 30: 313-322.
7. Obermayer B, Bänziger S. Mature Skin-Is it too Late for Cosmetics? SÖFW- Journal 2011; 137 (5): 29-35.
8. Zouboulis ChC, Makrantonaki E. Clinical aspects and molecular diagnostics of skin aging. *Clinics in Dermatology* 2011; 29: 3-149.
9. Epstein H. Field Notes from American Academy of Dermatology 69th Annual meeting, Household and Personal Care Today, 2011; (2): 42-43.
10. Sadick SN, Karcher Ch, Palmisano L. Cosmetic dermatology of the aging face. *Clinics in Dermatology* 2009; 27: S3-S12.
11. Rona C, Vailati F, Berardesca E. The cosmetic treatment of wrinkles. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2004; 3: 26-34.
12. Shahi S, Athawale R, Ghadge S. Skin Health-Aging-Wrinkles and Remedies. SÖFW-Journal 2008; 134 (5): 2-16.
13. Stern R, Maibach HI. Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clinics in Dermatology* 2008; 26: 106-122.

14. Vuleta G, Perović T, Savić S. Hijaluronska kiselina u kozmetičkim proizvodima. *Arhiv za farmaciju* 2009; 59: 551-562.
15. Secchi G. Role of protein in cosmetics. *Clinics in Dermatology* 2008; 26: 321-325.
16. Vuleta G. *Kozmetologija*, Beograd: Nauka, 1991.
17. Milojević M, Petrović S, Vuleta G. Primena proteina u kozmetičkim preparatima. *Arhiv za farmaciju* 2004; 54: 665-679.
18. Gorouhi F, Maibach HI. Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *International Journal of Cosmetic Science* 2009; 31: 327-345.
19. Anzali S, Graf R, Epstein H, Beyer N. An intelligent cyclic peptide facilitates build-up of collagen in skin. *SOFW-Journal* 2010; 136 (8): 28-32.
20. Hilling C. Human Growth Factors as natural healers: current literature and application. *Cosmetics & Toiletries* 2010; 125 (5): 73-76.
21. Manela-Azulay M, Bagatin E. Cosmeceuticals vitamins. *Clinics in Dermatology* 2009; 27: 469-474.
22. Vasiljević D, Savić S, Primorac M. Tretman i terapija ostarele kože: dermokozmetički i dermofarmaceutski preparati. *Arhiv za farmaciju* 2009; 59: 457-472.
23. Vasiljević D, Savić S, Đorđević Lj, Krajišnik D. Priručnik iz kozmetologije. prvo izdanje Beograd: Nauka, 2009.
24. Vuleta G, Savić S. Opravdanost primene vitamina i minerala u kozmetičkim proizvodima. *Arhiv za farmaciju* 2009; 59: 212-225.
25. Green AB, Yu JR, Van Scott JE. Clinical and cosmeceutical uses of hydroxyacids. *Clinics in Dermatology* 2009; 27: 495-501.
26. Vuleta G, Savić S, Šćepanović T. Dermokozmetički preparati za negu kože u menopauzi. *Arhiv za farmaciju* 2005; 55: 217-228.
27. Kovačević N. *Osnovi farmakognozije*. Beograd: Srpska školska knjiga, 2004.
28. Armengol R, Martinez-Teipel B, Rubio E. Combined forces work to restore skin firmness. *Personal Care* 2010 (11): 23-26.
29. Bertin C, Robert C, Jousselin M, Issachar N, Camel E. Treating Wrinkles with Dimethylaminoethanol, Retinol and Mineral Salts. *Cosmetics & Toiletries* 2008; 123 (4): 75-81.
30. Gao X-H, Zhang L, Wei H, Chen H-D. Efficacy and safety of innovative cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology* 2008; 26: 367-374.
31. Huber P, Hess K. Anti-Aging-Where Do We Stand? Theories and Hypotheses on Skin Aging. *SOFW-Journal* 2010; 136 (10): 2-11.
32. <http://www.neostrata.com/product/neostrata+renewal+cream.do?sortBy=ourPicks>
33. http://www.labosuisse.com/Laboina_Expression_Lines_int.aspx
34. Lintner K, Mas-Chamberlin C, Mondon P, Peschard O, Lamy L. Cosmeceuticals and active ingredients. *Clinics in Dermatology* 2009; 27: 461-468.
35. Clark E, Scerri L. Superficial and medium-depth chemical peels. *Clinics in Dermatology* 2008; 26: 209-218.
36. Sapijaszko MJA. Dermal fillers: Ever-expanding options for esthetic use. *Skin therapy letter* 2007; 12 (8): 4-6.
37. Rotunda MA, Kolodney SM. Mesotherapy and Phosphatidylcholine injections: Historical clarification and review. *Dermatologic surgery* 2006; 32: 465-480.

Effects of cosmetic active substances in the skin wrinkles treatment

Tatjana Sekulović¹, Gordana Vuleta², Snežana Savić²

¹ e-mail: tanjasekulovic@hotmail.com

² University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of pharmaceutical technology and cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

The ageing of skin occurs in all individuals at a variable rate which is influenced by genetic, environmental and hormonal factors. The ageing process can be divided into intrinsic ageing and extrinsic ageing. With increasing age the epidermis, the dermis and skin appendages progressively lose their youthful properties and abilities while skin functions deteriorate due to structural and morphologic changes. Mature skin is associated with weaknesses of the skin barrier, becoming more susceptible to external aggressors, and water can evaporate from the skin quickly. In recent years, there has been an increasing interest in reversing the effects of these age-related changes to restore a youthful appearance and improve patients' self-perception. Wrinkles now have a greater social impact because people live longer. Science and hedonism overlap in the search for causes, treatments and prevention of wrinkles. Active ingredients go well beyond simple moisturizers and exert a more complex activity in protecting skin from external injuries, nourishing it and removing its superficial layers. Both herbal and synthetic agents are available to cure wrinkles. Common anti-wrinkle agents are hyaluronic acid, proteins, peptides, vitamins, antioxidants, alpha hydroxy acids, etc. Beside the surgical treatments, various treatment options are available and include minimally invasive techniques such as microdermoabrasion, facial peels, dermal fillers, collagen and fat injections.

Keywords: skin ageing, wrinkles, cosmetic active ingredients, products for cosmetic treatment of wrinkles, recommendations for treatment of wrinkles
