

UV zračenje i reakcije kože

Kranjčević, Jacqueline-Katrin

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:715626>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Jacqueline-Katrin Kranjčević

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

UV zračenje i reakcije kože

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Morana Dulić

Zagreb, 2020.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

11. kolovoza 2020.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

30. rujna 2020.

Mentor rada: doc. dr. sc. Morana Dulić

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	9
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME	10
2.1. Koža.....	10
2.2. Melanin	11
2.3. Pigmentacija i osjetljivost kože na UV zračenje.....	14
2.4. Interakcija UV zračenja i kože	16
2.5. Utjecaj UV zračenja na DNA	17
2.5.1. Direktna oštećenja DNA	17
2.5.2. Indirektna oštećenja DNA.....	19
2.6. Popravak UV induciranog oštećenja DNA	20
2.6.1. NER.....	20
2.6.2. BER.....	21
2.6.3. NHEJ i HR	22
2.7. Zaštitni mehanizmi koji sprječavaju kancerogenezu	23
2.8. Oštećenje proteina.....	23
2.9. Oštećenje lipida	24
2.10. Obrana od ROS.....	24
2.11. Mutageneza.....	25
2.12. Imunosupresija.....	26
2.13. Kancerogeneza kože.....	29
2.14. Tamnjenje i eritem.....	31
2.15. Sinteza vitamina D	32
2.16. Fotostarenje	33
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXXV

§ Sažetak

UV (engl. *ultraviolet*) zračenje je elektromagnetsko zračenje valnih duljina između 100 i 400 nm te se dijeli na UVA, UVB i UVC zračenje, od kojih samo UVA i dio UVB dostižu Zemljinu površinu. UV zračenje može na razne načine interagirati s kožom: dio se reflektira, dio rasprši, a dio se apsorbira pomoću kromofora u koži. Dubina prodiranja UV zračenja u kožu proporcionalna je valnoj duljini. U akutne efekte UV zračenja na kožu ubrajaju se fotooštećenja, mutacije, imunosupresija, eritem, tamnjenje i sinteza vitamina D, dok su kronični efekti fotostarenje i fotokancerogeneza. Melanin je pigment u koži koji apsorpcijom UV zračenja štiti genetičku informaciju od mogućih oštećenja te svojom vrstom i količinom određuje boju kože i osjetljivost na UV zračenje. Fitzpatrickova ljestvica je numerička klasifikacija šest fototipova kože, ovisno o stupnju pigmentacije, osjetljivosti na UV zračenje i riziku od raka kože. MC1R (engl. *melanocortin-1 receptor*) određuje normalnu pigmentaciju kože pojedinca i predstavlja skretnicu između puteva biosinteze eumelanina i feomelanina. Također igra ključnu ulogu u adaptivnom tamnjenju. DNA (engl. *deoxyribonucleic acid*) je jedna od najvažnijih kromofora u koži. Direktnom apsorpcijom UVB zračenja nastaju fotoprodukti DNA poput ciklobutanskih pirimidinskih dimera (CPD, engl. *cyclobutane pyrimidine dimers*). Do oštećenja DNA može doći i indirektnim putem, pomoću reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, engl. *reactive oxygen species*) nastalih pod djelovanjem UVA zračenja. NER (engl. *nucleotide excision repair*) i BER (engl. *base excision repair*) predstavljaju iznimno važne mehanizme popravka DNA. NER uklanja CPD, dok BER uklanja oštećene baze poput 8-oksoG. Nepopravljena oštećenja dovode do mutacija, a za C→T i CC→TT se smatra da su mutacije svojstvene UV zračenju. Prirodno i umjetno UV zračenje klasificirano je kao kancerogen. Imunosupresijski efekt UV zračenja značajan je faktor koji omogućuje kancerogenezu. Rak kože dijeli se na: rak bazalnih stanica (BCC, engl. *basal cell carcinoma*); rak pločastih stanica (SCC, engl. *squamous cell carcinoma*) i melanom, odnosno rak melanocita (MM, engl. *malignant melanoma*), od kojih je melanom najagresivniji. Tumor supresor p53 može aktivirati apoptozu, jedan od obrambenih mehanizama organizma kojim se uklanjaju stanice s nepopravljivim oštećenjima i tako spriječiti nastanak tumora. Mutacije u proto-onkogenima i tumor supresorskim genima posebno su značajni u kancerogenezi. UV inducira izravno tamnjenje pigmenta (IPD, engl. *immediate pigment darkening*), trajno tamnjenje pigmenta (PPD, engl. *persistent pigment darkening*) i

zakašnjelo tamnjenje (DT, engl. *delayed tanning*), odnosno melanogenezu. Opekline od sunca karakterizirane su pojavom eritema i apoptotskih stanica. UV zračenje uzrokuje fotolizu 7-dehidrokolesterola (7-DHC, engl. *7-dehydrocholesterol*) u epidermi i na taj način pokreće put biosinteze aktivnog oblika vitamina D. Fotostarenje je preuranjeno starenje kože uzrokovano UV zračenjem.

§ 1. UVOD

Ultraljubičasto (UV, engl. *ultraviolet*) zračenje je elektromagnetsko (EM, engl. *electromagnetic*) zračenje čije valne duljine poprimaju vrijednosti između 400 i 100 nm, odnosno, fotoni ultraljubičastog dijela spektra EM zračenja imaju energiju između 3,1 i 12,4 eV. UV zračenje može se podijeliti u potkategorije, a najuobičajena je podjela na UVA (400-315 nm), UVB (315-280 nm) i UVC (280-100 nm) zračenje. Solarno UV zračenje prolazi kroz atmosferu, gdje gotovo svo UVC zračenje i preko 90% UVB zračenja biva apsorbirano od ozonskog omotača, kisika, vodene pare i drugih molekula u atmosferi, dok većina UVA zračenja kroz nju prolazi neometano. Od UV zračenja koje dostiže Zemljinu površinu, UVA predstavlja glavninu s 95%, dok preostali, manji udio predstavlja UVB zračenje.¹⁻³ Staklo predstavlja dobar filter za UVB zračenje, no ne i za UVA.⁴

Važnu ulogu u osvješćivanju javnosti o riziku UV zračenja te prekomjernom izlaganju istom ima tzv. UV indeks, internacionalni standardni sustav mjere intenziteta UV zračenja na Zemljinoj površini (tablica 1).² Više čimbenika određuje količinu UV zračenja koja doseže tlo, a to su: kutna visina sunca (koja ovisi o dobu dana i godine), geografska širina, nadmorska visina, količina naoblake i debljina ozonskog omotača. Tako je veća razina UV zračenja što je veća kutna visina sunca, manja geografska širina, veća nadmorska visina, manja naoblaka i tanji ozonski omotač. Također, dodatan značajan doprinos u količini UV zračenja koje dopire do pojedinca jest reflektivnost površina u njegovu okruženju: čisti snijeg reflektira do 80% UV zračenja, a pijesak do 25%. Hlad pruža samo parcijalnu zaštitu - osoba u hladu izložena je do 50% inicijalnog UV zračenja.²

UV dio sunčevog spektra ima negativne kao i pozitivne učinke na ljudsko zdravlje te je zaslužan za razne akutne i kronične efekte. U akutne efekte ubrajaju se fotooštećenja, mutacije, imunosupresija, eritem, tamnjenje i sinteza vitamina D, dok su kronični efekti fotostarenje i fotokancerogeneza, koja je inducirana mutacijama nastalim uslijed izlaganja UV zračenju, kao i imunosupresijom.⁵

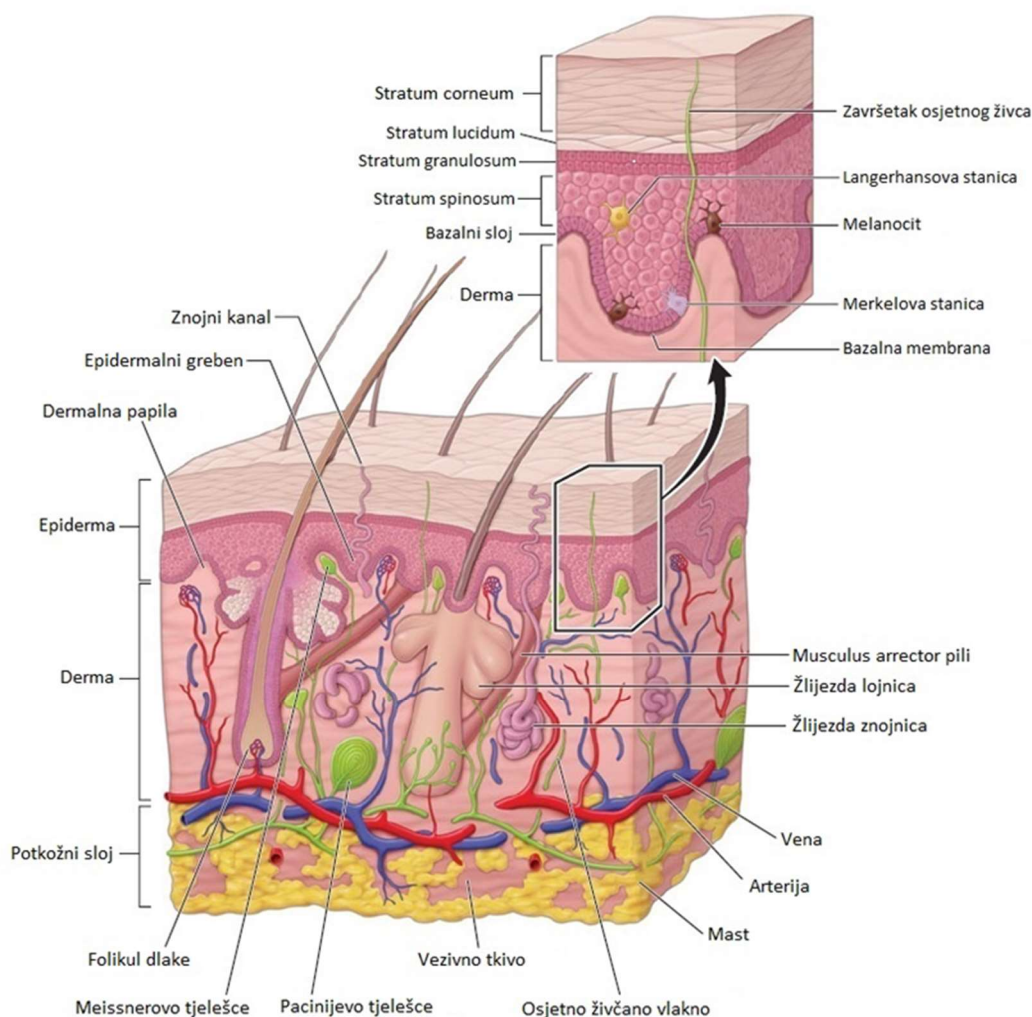
Tablica 1. UV indeks i pripadni rizik od štete pri izlaganju suncu bez zaštite (Preuzeto i prilagođeno s ref. (2))

Kategorija rizika	UV indeks
Niska	<2
Umjerena	3 – 5
Visoka	6 – 7
Vrlo visoka	8 – 10
Ekstremna	11+

§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

2.1. Koža

Koža predstavlja najveći organ kod ljudi te ima funkciju barijere koja, osim što omogućava izmjenu informacija u obliku osjeta kao i izmjenu tvari s okolinom, čini prvu liniju zaštite organizma od štetnih vanjskih utjecaja. Strukturu kože čine dva primarna sloja: derma i epiderma (slika 1).⁶ Glavna uloga epiderme je zaštita kože od raznih oštećenja, stranih molekula i mikroorganizama, dok derma ima potpurnu ulogu te se u njoj nalaze brojne kapilare, živci, žlijezde lojnice, folikuli kose i drugo. Kolagen i elastin u dermi zaslužni su za elastičnost i gipkost kože. Granicu između derme i epiderme čini tzv. bazalna membrana, iznad koje leži bazalni sloj stanica. Keratinociti tvore najveći dio epiderme te se stvaraju diobom matičnih stanica bazalnog sloja epiderme, a novonastale stanice migriraju prema površini kože uz istovremen prolazak kroz programiranu diferencijaciju, što onda dovodi do nastajanja različitih slojeva epiderme. Najviši sloj epiderme, stratum corneum, nastaje kada keratinociti izgube jezgru i organele, pri čemu se nastale nežive stanice čvrsto vežu jedna za drugu, okružene raznim lipidima poput ceramida, kolesterola i slobodnih masnih kiselina. Melanociti su druge po redu najučestalije stanice epiderme, tvoreći 10% bazalnog sloja stanica i 2-3% epidermalnih stanica ukupno te su specijalizirane za sintezu melanina, pigmenta koji apsorbira UV zračenje.^{6,7}



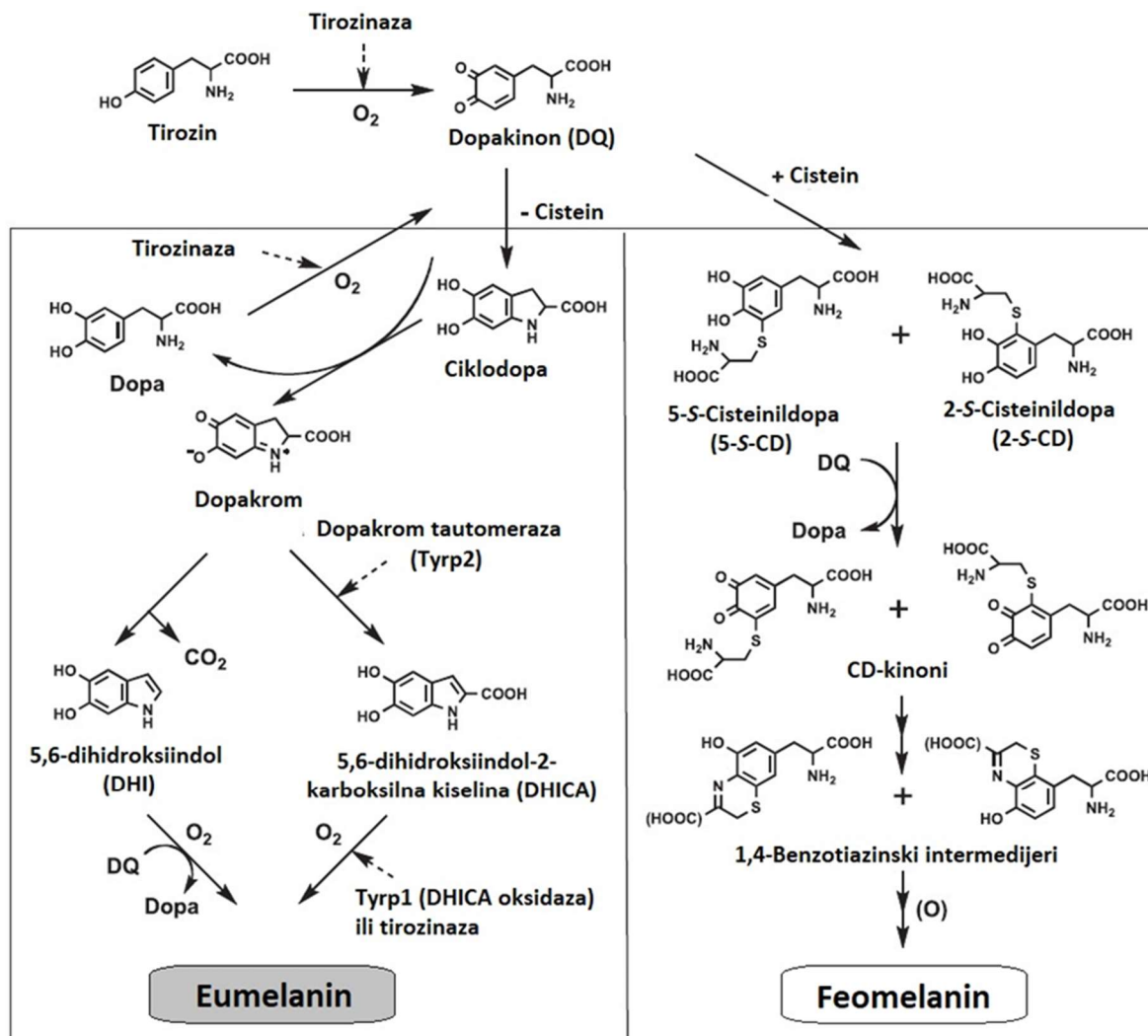
Slika 1. Koža se sastoji od dva glavna sloja, derme i epiderme, koji su međusobno odvojeni bazalnom membranom. Iznad bazalne membrane nalazi se sloj bazalnih stanica, od kojih 10% čine melanociti, a većina ostatka su matične stanice. U dermi se nalaze žlijezde lojnice, žlijezde znojnice, folikuli kose, živci, kapilare i drugo. Epiderma se sastoji od keratinocita koji migracijom prema površini prolaze kroz programiranu diferencijaciju, tvoreći tako različite slojeve epiderme. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. (6))

2.2. Melanin

Melanin je polimer derivata tirozina te svojom količinom i vrstom određuje boju kože i osjetljivost iste na UV zračenje. Melanin sintetiziran u melanocitima prenosi se do keratinocita pomoću specijaliziranih organela, tzv. melanosoma, koji procesom fagocitoze ulaze u keratinocite, gdje se smještaju iznad jezgre kako bi poslužili kao zaštita od UV zračenja. Na taj

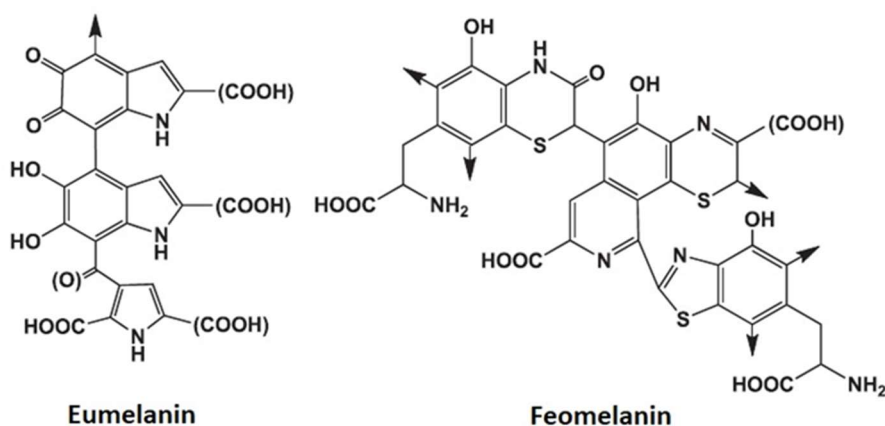
način mali broj melanocita stvara velike količine melanina za velik broj okolnih keratinocita i tako štiti njihovu genetičku informaciju od štetnog UV zračenja.⁶⁻⁸

Sinteza melanina započinje od tirozina, koji se pretvara u dopakinon pomoću tirozinaze, enzima s binuklearnim bakrovim centrom u aktivnom mjestu. Put biosinteze melanina prikazan je na slici 2.⁹ Alternativno, put sinteze može započeti od fenilalanina, koji se hidroksilacijom pretvara u tirozin i nastavlja istim reakcijskim putem. Dopakinon je zajednički prekursor dviju vrsta melanina, eumelanina i feomelanina, koji zajedno u različitim omjerima tvore kompleksni pigment melanin (slika 3).⁹ Intramolekulskom ciklizacijom dopakinona nastavlja se reakcijski put koji dovodi do formiranja eumelanina, dok u prisustvu cisteina (ili alternativne molekule koja sadrži tiolnu skupinu poput glutationa) reakcija dopakinona s tiolnom skupinom brža je od intramolekulske ciklizacije te se favorizira reakcijski put k feomelaninu. U pravilu svi tipovi kože sadrže veći udio eumelanina od feomelanina. Eumelanin i feomelanin razlikuju se po svom kemijskom sastavu, strukturi, kao i fizikalnim i kemijskim svojstvima. Tamnosmeđi, netopivi eumelanin, osim što pruža zaštitu od UV zračenja, ima i ulogu antioksidansa. Za razliku od njega, crvenkasto-žuti feomelanin, koji sadrži sumpor, fotolabilan je te fotolizom nastaju superoksidni i hidroksilni radikali te peroksidni ion; dakle, feomelanin je prooksidans.^{7,9,10} Mutacije gena koji kodira za tirozinazu ili druge proteine koji sudjeluju u melanogenezi dovodi do poremećaja u pigmentaciji kože, kose i očiju. Takav nasljedni genetski poremećaj, u kojemu je odsutna ili ograničena sinteza melanina, naziva se albinizmom.¹¹



Slika 2. Put biosinteze eumelanina i feomelanina. U prisustvu cisteina preferentno nastaje feomelanin, dok u odsutnosti nastaje samo eumelanin. Za biosintezu feomelanina potrebna je tirozinaza, dok u biosintezi eumelanina sudjeluju dva dodatna enzima: Tyrp1 i Tyrp2.

(Preuzeto i prilagođeno prema ref. (9))



Slika 3. Podjedinice eumelanina i feomelanina. Strjelice označavaju mjesta vezanja s drugim jedinicama. Karbonilna skupina između pirolnog i indolnog prstena može biti i metilenska.

(Preuzeto i prilagođeno prema ref. (9))

2.3. Pigmentacija i osjetljivost kože na UV zračenje

Boja kože određena je pigmentima koje sadrži, poput karotenoida, hemoglobina i različitih vrsta melanina te njihovom količinom. Pigmentacija kože također je određena brojnošću i organizacijom melanosoma. Gen koji kodira za melanokortin-1 receptor (MC1R, engl. *melanocortin-1 receptor*) igra ključnu ulogu u određivanju pigmentacije kože pojedinca, sklonosti razvijanju raka kože te u adaptivnom tamnjenju.^{11,12} MC1R je receptor spregnut s G-proteinom koji se nalazi u staničnoj membrani melanocita. Funkciju MC1R kontroliraju agonisti α -hormon koji stimulira melanocyte (α -MSH, engl. *α -melanocyte stimulating hormone*) i adrenokortikotropni hormon (ACTH, engl. *adrenocorticotropic hormone*) te kompetitivni antagonist agouti signalni protein (ASP, engl. *agouti-signaling protein*). Vezanjem agonista za MC1R aktivira se kaskada reakcija koja dovodi do sinteze eumelanina, dok vezanje antagonista dovodi do sinteze feomelanina. α -MSH i ACTH također dovode do pojačane ekspresije *MC1R* gena i na taj način djeluju mehanizmom pozitivne povratne sprege. Funkcija MC1R predstavlja skretnicu između sinteze dvaju oblika melanina, a koja će vrsta melanina biti sintetizirana ovisi o više faktora, ali je u svakom slučaju potreban funkcionalan MC1R za efektivnu sintezu eumelanina. MC1R je visoko polimorfni protein, a njegove defektne genetske varijante dovode do smanjene sinteze eumelanina, što se očituje u svijetloj boji kože i posljedično nižoj razini zaštite od UV zračenja, odnosno većoj osjetljivosti na isto. Povrh toga, defekt MC1R može dovesti do manje efikasnosti popravka oštećenja DNA u melanocitima i većoj akumulaciji mutacija u genomu, što dovodi do većeg rizika od raka.^{8,12,13}

Različita obojenost kože povezuje se s različitim etničkim skupinama ljudi, koji različito reagiraju na UV zračenje. Kod pojedinaca sa svjetlijom kožom, melanosomi siromašni na pigmentima smješteni su iznad jezgre u keratinocitima, dok su kod pojedinaca s tamnijom kožom melanosomi bogatiji pigmentima i ravnomjerno su raspoređeni unutar keratinocita.^{14,15} 1975. godine razvijena je tzv. Fitzpatrickova ljestvica,¹⁶ koja je podijeljena na šest Fitzpatrickovih fototipova kože (FSP, engl. *Fitzpatrick Skin Phototype*), ovisno o količini melanina, reakciji na UV zračenje i sklonosti razvijanja opekline od sunca te riziku od razvijanja raka kože (tablica 2).^{8,17} Fototipovi kože s nižim brojem osjetljiviji su na UV zračenje, a posljedično imaju veću susceptibilnost k solarnom eritemu (crvenilu kože koje nastaje uslijed izlaganja sunčevom zračenju), ne tamne lako te imaju povećan rizik od raka kože. Fototipovi viših brojeva, s druge strane, manje su osjetljivi na UV zračenje, lako tamne te imaju niži rizik od raka kože. U praksi se osjetljivost kože na UV zračenje može odrediti mjerenjem minimalne doze UV zračenja (mjerene u $J m^{-2}$) potrebne da bi došlo do pojave eritema, označene s MED (engl. *minimal erythema dose*). Tako niži brojevi na Fitzpatrickovoj ljestvici imaju manje vrijednosti MED, dok viši brojevi u pravilu imaju veće vrijednosti MED.¹⁷

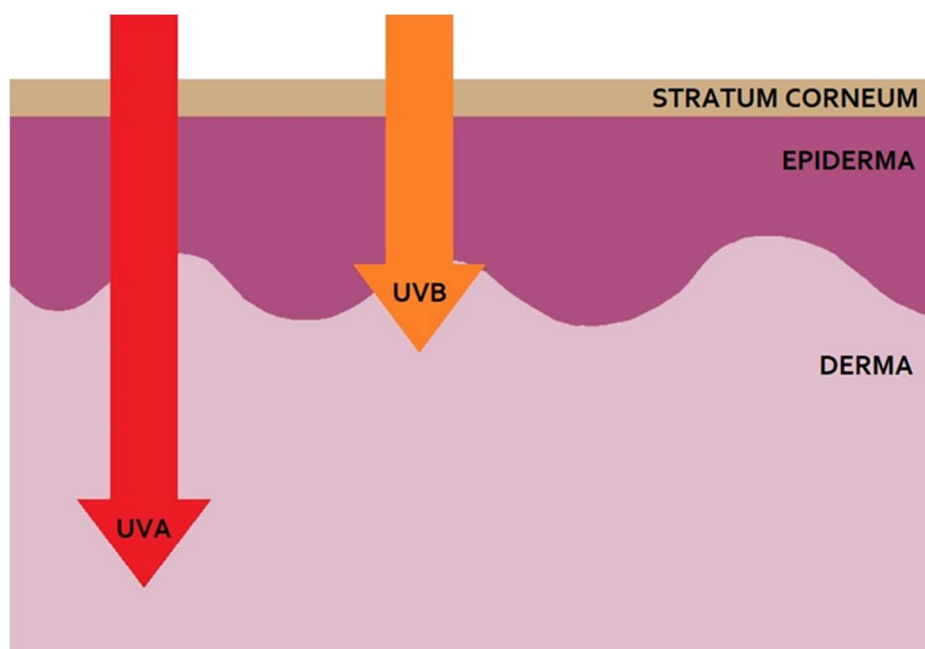
Tablica 2. Fitzpatrickova ljestvica šest fototipova kože, njihova relativna količina epidermalnog melanina, reakcija na UV zračenje, MED i rizik od razvijanja raka kože. MED (engl. *minimal erythema dose*) je minimalna količina UVB zračenja koja uzrokuje crvenjenje i upalu kože 24-48 h nakon izlaganja, ovdje izražena pomoću SED (engl. *standard erythema dose*) koja iznosi $100 J m^{-2}$. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. (8) i (17))

Fitzpatrickov fototip	Fenotip	Epidermalni eumelanin	Reakcija kože na UV	1 MED / SED	Rizik od raka
I	Blijeda bijela koža Plave/zelene oči Učestale pjegice Crvena ili plava kosa	+/-	Uvijek gori Guli se Nikad ne tamni	2 – 3	++++
II	Bijela koža Plave, smeđe ili oči boje lješnjaka Crvena, plava ili smeđa kosa	+	Lako gori Guli se Minimalno tamni	3 – 4	+++ / ++++

III	Svijetla koža Smeđe oči Tamna kosa	++	Umjereno gori Prosječna sposobnost tamnjenja	4 – 5	+++
IV	Svjetlosmeđa koža Tamne oči Tamna kosa	+++	Minimalno gori Lako tamni	5 – 6	++
V	Smeđa koža Tamne oči Tamna kosa	++++	Rijetko gori Lako i jako tamni	8 – 12	+
VI	Crna koža Tamne oči Tamna kosa	+++++	Gotovo nikada ne gori Smjesta i obilno tamni	16 – 24	+ / -

2.4. Interakcija UV zračenja i kože

Ovisno o valnoj duljini, UV zračenje prodire u različite slojeve kože, odnosno, doseže različitu dubinu. Tako zračenje koje pripada UVA dijelu spektra, zbog većih valnih duljina prodire duboko u dermu, u dubinu od oko 1000 μm , dok se većina UVB zračenja apsorbira u epidermi ili gornjoj dermi, u dubini od 160 do 180 μm (slika 4).¹⁸



Slika 4. Prodornost UV zračenja ovisno o valnim duljinama. UVA zračenje prodire duboko u dermu, dok se većina UVB zračenja apsorbira u epidermi ili gornjoj dermi.

UV zračenje može na više načina interagirati s kožom čovjeka: dio zračenja se reflektira, dio se rasprši, a dio biva apsorbirano od raznih molekula u koži, takozvanih kromofora. Svakoj molekuli, koja je sposobna apsorbirati UV zračenje, moguće je pripisati karakteristični apsorpcijski spektar pa tako različite molekule apsorbiraju jače ili slabije u određenom dijelu UV spektra. Apsorpcijom kvanta energije, molekula prelazi na višu energijsku razinu, odnosno prelazi u pobuđeno stanje. Iz pobuđenog stanja molekula može preći natrag u osnovno stanje otpuštanjem viška energije u obliku topline ili se ta energija iskoristi za strukturne promjene ili odvijanje raznih fotokemijskih reakcija, koje mogu rezultirati promjenom same molekule kromofora ili promjenom drugih molekula prijenosom energije. Takve fotokemijske reakcije mogu naposljetku dovesti do oštećenja raznih bioloških makromolekula i dijelova stanice.^{17,18}

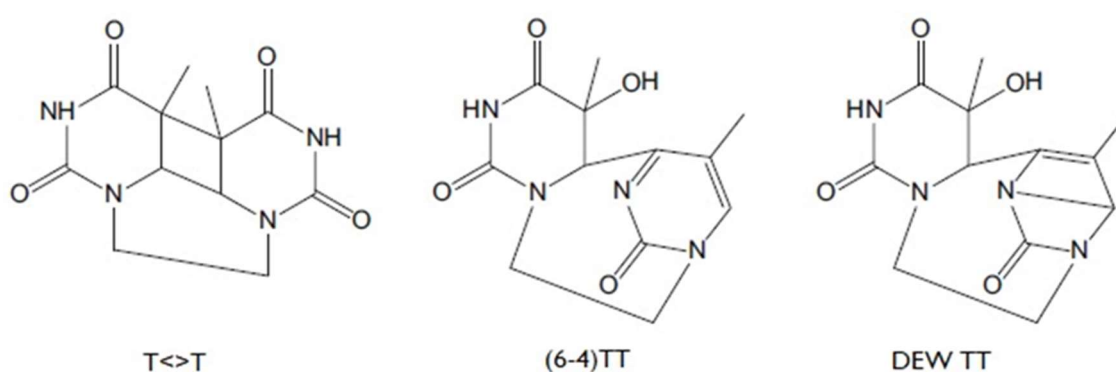
2.5. Utjecaj UV zračenja na DNA

Od svih molekula u stanicama kože koje apsorbiraju UV zračenje, DNA kao nositeljica genetičke informacije vjerojatno je najvažnija. Do njena oštećenja može doći direktnom apsorpcijom UV zračenja kao i indirektnim mehanizmima, a oba puta mogu naposljetku dovesti do mutacija u genima ključnim za opstanak stanice te može doći do nastanka raka kože.¹⁸

2.5.1. Direktna oštećenja DNA

Iako UVB zračenje čini samo 2-10% solarnog UV zračenja koje dostiže do Zemljine površine i prodire uglavnom samo do epidermalnih slojeva kože, ono se smatra jačim kancerogenom od UVA zračenja, zbog toga što ga DNA bolje apsorbira.¹⁹ Zapravo, DNA ima maksimum apsorpcije pri valnoj duljini od oko 260 nm, što spada u UVC dio spektra, koje je praktički svo apsorbirano u atmosferi. Pri valnim duljinama većim od 300 nm, sposobnost apsorpcije UV zračenja znatno opada.²⁰ Direktnom apsorpcijom UVB zračenja nastaju fotoprodukti DNA, koji predstavljaju deformirajuća strukturna oštećenja dvostruke zavojnice DNA i time inhibiraju njenu replikaciju i transkripciju. Fotoprodukti DNA nastaju kovalentnim povezivanjem dvaju susjednih pirimidinskih baza istog polinukleotidnog lanca, a najčešći takvi bipyrimidinski fotoprodukti su ciklobutanski pirimidinski dimeri (CPD, engl. *cyclobutane pyrimidine dimers*), pirimidin (6-4) pirimidon fotoprodukti ((6-4)PP, engl. *pyrimidine-pyrimidone (6-4) photoproducts*) i Dewarovi valentni izomeri (DEW, engl. *Dewar valence isomers*), prikazani na slici 5.²³ CPD nastaju fotoinduciranim stvaranjem dviju kovalentnih veza između dviju susjednih pirimidinskih baza, timina ili citozina (T ili C), točnije, između njihovih C6 i C5 ugljikovih atoma, pri čemu se formira ciklobutanski prsten između te dvije baze, po čemu su

dobili i ime. Nastaju svi mogući pirimidinski dimeri, od kojih je timinski dimer (TT) najčešći.^{18,19} CPD uglavnom nastaju kao posljedica apsorpcije UVB zračenja, ali je pokazano da biološki značajne doze UVA zračenja također dovode do stvaranja CPD u keratinocitima i melanocitima ljudske kože, ali drugačijim mehanizmom (*vide post*).²¹ (6-4)PP nastaju stvaranjem jednostruke veze između C6 atoma jedne i C4 atoma druge pirimidinske baze, a rezultat su isključivo UVB zračenja. Pri izlaganju samo UVA zračenju nisu detektirani, no, za razliku od normalnih baza, oni dobro apsorbiraju UVA zračenje pa (6-4)PP, nastali pod utjecajem UVB zračenja, apsorpcijom UVA zračenja pomoću procesa fotoizomerizacije mogu preći u Dewarove valentne izomere. DEW nisu detektirani u stanicama kože izloženim biološki relevantnim količinama „čistog“ UVB zračenja, dok izlaganjem UVA i UVB zračenju jesu. Objašnjenje tog zapažanja jest da je UVB zračenje zaslužno za stvaranje (6-4)PP, dok je UVA zaslužno za njihovu fotoizomerizaciju u DEW. Navedeni pirimidinski dimeri tvore velike deformacije u strukturi dvostruke zavojnice DNA, tako što poremećuju ispravno sparivanje baza i iskrivljuju pravilnu B konformaciju molekule DNA.^{18,19,22,23}



Slika 5. Bipirimidinski fotoprodukti DNA između dvaju timina. T<>T označava ciklobutanski pirimidinski dimer, (6-4)TT označava pirimidin (6-4) pirimidonski fotoprodukt, a DEW TT Dewarov valentni izomer. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. (23))

2.5.2. Indirektna oštećenja DNA

Iako apsorpcija DNA naglo opada pri većim valnim duljinama, pokazano je da UVA zračenje također dovodi do njena oštećenja. No oštećenje DNA uzrokovano UVA zračenjem nastaje drugim mehanizmom, odnosno postoje druge molekule koje apsorbiraju UVA zračenje i naposljetku dovode do nastajanja oštećenja na DNA. Kromofori poput citokroma, flavina, hema, nikotinamid adenin dinukleotida (fosfata) (NAD(P)H, engl. *nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate)*), porfirina i melanina apsorbiraju UVA zračenje te njihova pobuda može dovesti do mutagenih reakcija oksidativnog oštećenja DNA na dva načina: reakcijama fotosenzitizacije u kojima se energija pobude direktno prenosi na DNA te reakcijama fotosenzitizacije u kojima se energija prenosi na molekularni kisik, pri čemu nastaju reaktivne kisikove vrste (ROS, engl. *reactive oxygen species*) koje onda oštećuju DNA.¹⁸

Prvi tip reakcija je vjerojatno zaslužan za nastajanje ciklobutanskih pirimidinskih dimera, nastalih kao posljedica izlaganja UVA zračenju. Kao što je već spomenuto, na ovaj način dolazi do nastanka CPD, ali ne i (6-4)PP.¹⁸ Pronađeno je da u melanocitima CPD nastaju trenutno, ali i satima nakon prestanka ozračivanja UV svjetlošću, pomoću neobičnog mehanizma nazvanog „kemijska citacija“.²⁴ Proces započinje aktivacijom sintaze dušikovog(II) oksida (NOS, engl. *nitric oxide synthase*) i NADPH-oksidade (NOX, engl. *NADPH oxidase*) pomoću UV zračenja, što rezultira nastankom radikala dušikovog(II) oksida (NO^*) i superoksidnog aniona ($\text{O}_2^{\cdot-}$), koji pak reagiraju i zajedno daju peroksinitritni ion (ONOO^-), jak oksidans. Peroksinitritni ion zatim razgrađuje polimere melanina na monomere, koji su lipofilni i dovoljno mali kako bi mogli ući u staničnu jezgru. Monomeri melanina zatim se mogu i oksidirati pomoću peroksinitritnog iona, što dovodi do pobuđivanja njihova elektrona na vrlo visoku energijsku razinu, odnosno, dolazi do kemijske citacije. Pobuđeni monomeri zatim tu energiju neradijativno predaju molekuli DNA i nastaju takozvani „mračni“ CPD. Kvantitativne analize pokazale su da je u melanocitima više od pola CPD nastalo nakon što je prekinuto ozračivanje UV svjetlošću, s time da broj CPD raste do 3 sata nakon prestanka izlaganja UV zračenju, nakon čega se njihov broj smanjuje zbog mehanizma popravka DNA. Također je ustanovljeno da je pojava CPD (inicijalnih, kao i naknadnih) češća u prisustvu veće količine feomelanina, što dovodi do zaključka da feomelanin ne pruža samo lošiju zaštitu od UV zračenja i nastanka CPD, već sudjeluje u procesu kemijske citacije koja dovodi do njihova stvaranja. To opažanje bi moglo objasniti veću osjetljivost na UV zračenje od strane pojedinaca s bijelom kožom i plavom ili crvenom bojom kose.^{19,24}

U drugom tipu reakcija, prijenosom energije s pobuđenih kromofora na molekularni kisik nastaju reaktivne kisikove vrste poput superoksidnog anionskog radikala ($O_2^{\cdot-}$), vodikovog peroksida (H_2O_2), hidroksilnog radikala (HO^{\cdot}) i singletnog kisika (1O_2). ROS napadaju DNA tvoreći oštećenja poput oksidiranih baza ili jednolančanih lomova. Nukleotidi su izrazito osjetljivi na oštećenja putem ROS, a preferentna meta za fotooksidativne reakcije je gvanin zbog svog niskog redukcijskog potencijala. Tipično oštećenje DNA u takvim oksidativnim procesima je 7,8-dihidro-8-oksoGvanin (8-oksoG), koji je mutagen. Takva oštećenja najčešće su popravljena izrezivanjem baze putem BER (engl. *base excision repair*) mehanizma.^{8,19,25} Jednolančani lomovi u molekuli DNA (SSB, engl. *single strand break*) mogu nastati napadom hidroksilnog radikala na fosfodietersku okosnicu DNA, što rezultira njenom hidrolizom. Također može doći do nastanka dvolančanih lomova (DSB, engl. *double strand break*) kao rezultat pucanja replikacijskih rašlji.¹⁹

Pokazano je da oštećenja DNA uslijed oksidativnog stresa nisu glavni oblik oštećenja DNA uzrokovanih UVA zračenjem, već CPD ipak prevladavaju. Određen je omjer CPD, 8-oksoG, oksidiranih pirimidina i SSB uzrokovanih UVA zračenjem te on iznosi 10:3:1:1. U melanocitima je pak izraženije nastajanje 8-oksoG uslijed izlaganja UVA zračenju u odnosu na keratinocite. Uzrok tomu moglo bi biti dodatno nastajanje ROS u melanocitima tijekom biosinteze melanina. Smatra se da su pirimidinski dimeri značajnija oštećenja od oksidiranih baza zbog toga što jače ometaju progresiju DNA-polimeraze.¹⁹ No, u usporedbi s UVB zračenjem, UVA zračenje uzrokuje značajno manju količinu DNA oštećenja.²⁵

2.6. Popravak UV inducirano oštećenja DNA

Stanice su opskrbljene različitim mehanizmima popravka DNA, koji štite genetičku informaciju na način da uklanjaju oštećenja nastala raznim štetnim agensima. Kada je riječ o UV induciranim oštećenjima, od posebnog su značaja mehanizmi NER (engl. *nucleotide excision repair*), BER (engl. *base excision repair*), NHEJ (engl. *non-homologous end joining*) i HR (engl. *homologous recombination*) (slika 6).¹⁹

2.6.1. NER

Oštećenja DNA koji u velikoj mjeri iskrivljuju strukturu dvostruke zavojnice, poput pirimidinskih dimera (CPD i (6-4)PP), mogu prepoznati i popraviti enzimi mehanizma popravka izrezivanjem nukleotida, (NER, engl. *nucleotide excision repair*). Enzimi NER mehanizma prepoznaju oštećenje DNA, zatim ekscinukleaza napravi jednolančani lom u

polinukleotidnom lancu koji sadržava oštećenje, udaljen nekoliko nukleotida s obje strane oštećenja. Fragment DNA odvoji se uz pomoć DNA-helikaze, nastala šupljina popuni pomoću DNA-polimeraze ϵ , koja koristi komplementarni lanac kao kalup, a fragmenti spoje pomoću DNA-ligaze.²² Postoje dvije vrste NER: popravak udružen s transkripcijom (TCR, engl. *transcription-coupled repair*) i globalni genomski popravak (GGR, engl. *global genome repair*). TCR je mehanizam popravka koji se koristi kada se oštećenje nalazi u genu koji se aktivno transkribira te se proteini TCR kompleksa regrutiraju kao odgovor na zastoj RNA-polimeraze II kada naiđe na oštećenje DNA. GGR se koristi u ostalim dijelovima genoma. Mehanizmi popravka razlikuju se samo u prvom koraku, odnosno prepoznavanju oštećenja. Struktura kromatina, odnosno njegova dekonkondenzacija ključna je za osiguravanje dostupnosti DNA za razne procese, poput transkripcije i popravka DNA. Zbog toga postoji vremenska razlika u popravku oštećenja nastalih u eukromatinu i heterokromatinu. Sporiji popravak oštećenja u heterokromatinu mogao bi biti posljedica manje dostupnosti DNA raznim proteinima, kao što su enzimi za popravak, i posljedično težeg prepoznavanja i uklanjanja oštećenja. Dostupnost DNA u otvorenom (eu)kromatinu, nastalim uslijed ubikvitinacije i fosforilacije histona, mogla bi omogućavati efikasno prepoznavanje i popravak oštećenja i u lancu DNA koji nije transkribiran. Veća je pojavnost fotooštećenja DNA u heterokromatinu nego u eukromatinu, kao i UV specifičnih mutacija. Razlog bi mogao ležati u višestrukim endogenim procesima koji smanjuju količinu oštećenja u dijelovima genoma koji su najaktivniji.^{19,26,27}

NER, kao jedini mehanizam popravka pirimidinskih dimera kod ljudi, igra izrazito bitnu ulogu u zaštiti od UV induciranih mutacija i karcinoma poput melanoma. To je najbolje vidljivo na primjeru dobro proučavane genetičke bolesti Xeroderma Pigmentosum (XP). Pojedinci s navedenom bolešću posjeduju genetički defekt u jednom od sedam različitih „XP“ gena, zbog kojega imaju defektan NER. Posljedično se očituje ekstremna osjetljivost na sunčevu svjetlost te nekoliko tisuća puta povećan rizik od UV induciranog raka kože.¹⁹

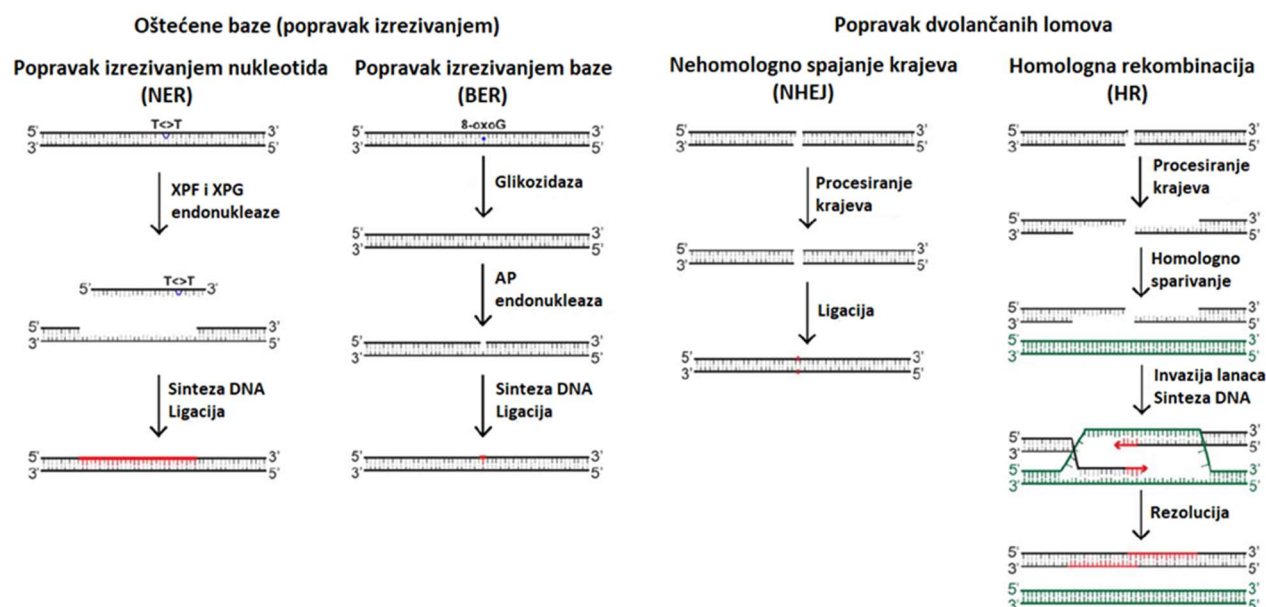
2.6.2. BER

Mehanizam popravka izrezivanjem baze (BER, engl. *base excision repair*) upotrebljava se, među ostalim, za popravak oštećenja nastalih uslijed djelovanja UV induciranog oksidativnog stresa kao što je 8-oksoG. Mehanizam započinje prepoznavanjem oštećene baze od strane specifične glikozidaze, u ovom slučaju 8-oksoG DNA-glikozidaze (OGG1, engl. *8-oxoguanine glycosylase 1*), koja zatim cijepa N-glikozidnu vezu između baze i deoksiriboze. Nastaje tzv.

abazno, odnosno apurinsko mjesto (AP, engl. *apurinic*) u molekuli DNA. Enzim AP-endonukleaza 1 načini jednolančani lom s 5' kraja AP, a DNA-polimeraza β ukloni 2'-deoksiribozu-5'-fosfat te ju zamijeni s ispravnim nukleotidom na temelju komplementarnog lanca. DNA-ligaza zatim pokrpa fosfodietersku okosnicu. Jednolančani lomovi u molekuli DNA zapravo predstavljaju jedan od intermedijera BER, stoga neki od enzima BER mehanizma sudjeluju u njihovom popravku.¹⁹

2.6.3. NHEJ i HR

Dvolančani lomovi (DSB) su još jedan oblik UV induciranog oštećenja dvostruke zavojnice DNA, a popravljaju se na nešto složeniji način putem jednog od dvaju mehanizama: nehomolognog spajanja krajeva (NHEJ, engl. *non-homologous end joining*) ili homolognom rekombinacijom (HR, engl. *homologous recombination*). U NHEJ mehanizmu dolazi do direktnog povezivanja polomljenih krajeva, bez njihovog značajnog procesiranja, što može rezultirati gubitkom ili promjenom genetičke informacije. HR mehanizam uključuje opširnije procesiranje krajeva i homolognu molekulu DNA ili dio iste molekule DNA koji sadrži gotovo identičan nukleotidni slijed kao kalup. Dolazi do razdvajanja homologne molekule DNA, invazije lanaca oštećene DNA i sparivanje s homolognim dijelom. Replikacijom DNA sintetizira se dio lanca koji nedostaje, zatim dolazi do rezolucije HR intermedijera i ponovnog uspostavljanja cjelovite dvostruke zavojnice DNA. Koji mehanizam će se upotrijebiti za popravak DSB ovisi o podfazi staničnog ciklusa. NHEJ je dominantan mehanizam, dok je HR preferentan u S-fazi, kada je prisutan homologni kalup DNA. Smatra se da je NHEJ više mutagen.¹⁹



Slika 6. Shematski prikaz glavnih mehanizama popravka UV induciranih oštećenja DNA. NER mehanizam upotrebljava se za popravak pirimidinskih dimera, BER je glavni mehanizam popravka oksidiranih baza, dok se NHEJ i HR koriste za popravak dvolančanih lomova. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. (19))

2.7. Zaštitni mehanizmi koji sprječavaju kancerogenezu

Usprkos korisnih mehanizama popravka DNA, dio oštećenja ostaje nepopravljeno. No stanice posjeduju dodatne zaštitne mehanizme, koji sprječavaju nepoželjne pojave poput kancerogeneze. Dva mehanizma su od posebnog značaja: zaustavljanje staničnog ciklusa i apoptoza. U oba mehanizma ključni je igrač tumor supresorski gen *TP53*, odnosno njegov protein p53. UV inducirano oštećenje DNA dovodi do pojačane ekspresije *TP53* gena i aktivacije p53 proteina fosforilacijom. Akumulacija aktiviranog p53 proteina zaustavlja stanični ciklus u G1-fazi, što popravnim enzimima daje više vremena da uklone oštećenja s DNA, prije nego što dođe do replikacije DNA u S-fazi. Ukoliko je oštećenje genoma preveliko i adekvatan popravak nije moguć, stanica bira apoptotski put, to jest programiranu staničnu smrt kako bi izbjegla prijenos mutacija na stanice-kćeri. p53 također pridonosi održavanju genomske stabilnosti te promovira ispravnu replikaciju DNA kao i njen popravak.^{26,28}

2.8. Oštećenje proteina

Glavni biološki utjecaj UVA zračenja na organizam vrlo vjerojatno ne leži u njegovoj sposobnosti da inducira DNA oštećenja, što bi se moglo zaključiti iz pronalaska da su pojedinci

s XP, koji imaju stanice s defektnim NER mehanizmom, ekstremno osjetljivi na UVB zračenje, ali ne pokazuju hipersenzitivnost na UVA. Također je zanimljivo da CPD inducirani UVA zračenjem (u normalnim stanicama s funkcionalnim NER mehanizmom) zaostaju dulje vrijeme u odnosu na CPD nastale pod utjecajem UVB zračenja, što bi moglo značiti da je UVA na neki način kompromitirao popravne mehanizme oštećenja DNA. Već je prije spomenuto kako UVA zračenje generira oksidativni stres. ROS kao nespecifični agresivni reagensi nemaju štetan učinak samo na DNA, već mogu oštetiti i razne stanične proteine (i izvanstanične proteine, o čemu će biti govora kasnije). Oksidacijom proteina, oni mogu potpuno izgubiti svoju funkciju ili se parcijalno inaktivirati, što je vrlo nepovoljno, pogotovo u slučaju proteina koji sudjeluju u popravku oštećenja DNA. Pokazano je da UVA zračenje inhibira NER te da je taj učinak pojačan u prisustvu egzogenih fotosenzitizatora koji dodatno povećavaju razinu oksidativnog stresa.²⁵

2.9. Oštećenje lipida

Još jedna važna skupina spojeva koji trpe oksidativni stres jesu lipidi, poput lipida koji grade stanične membrane i slobodnih lipida u najvišem sloju epiderme. ROS mogu oksidirati lipide, bilo direktnom oksidacijom njihovih dvostrukih veza ili indirektno, putem lančane reakcije, u kojoj jedan oksidirani lipid reagira s drugim lipidom. Oštećenja membranskih lipida može dovesti do ekspresije gena koji sudjeluju u odgovoru na stres ili proizvodnje prostaglandina, fiziološki aktivnih lipida koji posreduju reakcije upale.²⁹

2.10. Obrana od ROS

Kako bi se mogle boriti protiv ROS i tako zaštititi od njihovog razarajućeg učinka na bitne biološke makromolekule, stanice posjeduju vlastiti obrambeni sustav antioksidansa. Jedan od najvažnijih antioksidansa je glutathion (GSH), tripeptid glutamata, cisteina i glicina, gdje γ -karboksilna skupina glutamata, umjesto α -karboksilne skupine, tvori γ -peptidnu vezu s cisteinom. Doniranjem elektrona reaktivnim molekulama, glutathion (GSH) prelazi u svoj oksidirani oblik (GSSG), gdje su dvije molekule glutathiona povezane disulfidnom vezom. Reducirani oblik se zatim može regenerirati pomoću enzima glutathion-reduktaze, koji koristi NADPH kao izvor elektrona, održavajući tako normalan omjer reduciranog i oksidiranog oblika glutathiona u stanicama. Povećana razina oksidiranog oblika (GSSG) pokazatelj je da stanica trpi oksidativni stres.^{8,30,31} Jedan od načina na koji se stanice mogu adaptirati na oksidativni stres je preusmjeravanje metabolizma glukoze iz glikolize u put pentozna fosfata. Na taj način

se povećava proizvodnja NADPH, kako bi se mogla održati adekvatna razina GSH potrebna za obranu od oksidativnog stresa te posljedičnog oštećenja DNA i proteina.²⁵ Još jedan od važnih antioksidansa je superoksid dismutaza (SOD, engl. *superoxide dismutase*), metaloenzim koji sadrži binuklearni Cu i Zn ili mononuklearni Mn kao kofaktor te pretvara dva superoksidna radikala u molekularni kisik i vodikov peroksid. Postoje tri oblika SOD kod ljudi: citosolna, mitohondrijska i ekstracelularna.²⁸ Vodikov peroksid se zatim razlaže na vodu i kisik pomoću katalaze, enzima koji sadrži molekulu hema u aktivnom mjestu.³²

2.11. Mutageneza

Tijekom S-faze staničnog ciklusa dolazi do replikacije DNA, kako bi svaka stanica-kćer nakon diobe imala identičnu kopiju genetičke informacije. Usprkos zaštite genoma pomoću popravkih mehanizama DNA, dio oštećenja zaostaje i ulazi u S-fazu. Npopravljena oštećenja poput UV induciranih pirimidinskih dimera ili oksidiranih baza mogu prilikom replikacije DNA dovesti do ugradnje pogrešnog nukleotida u nosivostetizirani lanac i na taj način nastaje mutacija.³³

CPD se mogu detektirati i 24-48 sati nakon izlaganja UV zračenju, što upućuje na nisku brzinu njihova popravka. Iz tog razloga smatra se da su prvenstveno oni zaslužni za mutacije DNA uzrokovane UV zračenjem.³⁴ Postoje dvije hipoteze koje bi mogle objasniti mutageni efekt pirimidinskih dimera: zaobilazak oštećenja i deaminacija citozina.³⁶ Pirimidinski dimeri dovode do zastoja replikacijskih rašlji, što može imati negativne posljedice za stanicu.¹⁹ Kako bi se to izbjeglo, dolazi do zaobilaska oštećenja pomoću translezijske sinteze (TLS, engl. *translesion synthesis*), procesa koji dozvoljava replikaciju DNA pored oštećenja poput CPD i apurinskih mjesta. No TLS, koju izvode posebne zaobilazeće DNA-polimeraze sklone pogrešci, može dovesti do ugradnje adenina nasuprot citozina unutar CPD, što dovodi do nastanka C→T ili CC→TT mutacija. Druga hipoteza predstavlja model u kojemu se citozin u sklopu CPD prvo deaminira, pri čemu nastaje uracil, kojega onda polimeraze „ispravno“ spare s adeninom i na taj način ponovno dolazi do C→T tranzicijske mutacije.^{35,36} Tranzicijske mutacije su točkaste mutacije u kojima dolazi do zamjene jednog purinskog nukleotida drugim purinskim nukleotidom ili pirimidinskog nukleotida drugim pirimidinskim nukleotidom. Deaminacija citozina je vrlo spor spontani proces koji se događa u stanicama, no ukoliko se citozin nalazi u sklopu pirimidinskog dimera, brzina deaminacije povećava se za šest redova veličine.³⁵ Inducirani C→T i CC→TT prijelazi specifična su UV inducirana oštećenja i stoga se često nazivaju UV mutacijskim potpisima.^{34,36,37}

8-oksoG, za razliku od pirimidinskih dimera, ne dovodi do zastoja replikacijskih rašlji prilikom replikacije. 8-oksoG u *syn* konformaciji oponaša timin, stoga prilikom replikacije nastaje stabilan promutageni A(*anti*):8-oksoG(*syn*) Hoogsteenov par, umjesto nemutagenog C(*anti*):8-oksoG(*anti*) Watson-Crickovog para. Nadalje, A:8-oksoG par izbjegava korekciju od strane DNA-polimeraze. Npopravljeni 8-oksoG naposljetku uzrokuje G→T transverziju mutaciju (točkastu mutaciju u kojoj dolazi do zamjene purinskog nukleotida pirimidinskim ili obrnuto). Također može doći do oštećenja slobodnih nukleozid-trifosfata te najčešće nastaje 8-okso-dGTP, čijom ugradnjom nasuprot adenina prilikom replikacije DNA nastaje A:8-oksoG par, koji naposljetku dovodi do A→C transverzije.³³

Smatra se da UVA i UVB imaju sinergistički efekt što se tiče mutageneze. Dok je UVB zaslužan za većinu fotooštećenja, snižavanjem efikasnosti NER i drugih mehanizama popravka DNA, UVA povećava mutageni efekt UVB zračenja.²⁵

2.12. Imunosupresija

Pored navedenih učinaka, UV zračenje također inducira imunosupresiju. Ono smanjuje obrambenu sposobnost organizma, primjerice na način da smanji njegovu sposobnost prepoznavanja i reagiranja na tumorske i virusne antigene. Također može dovesti do suzbijanja razvoja kontaktne preosjetljivosti.⁵ UV inducirana imunosupresija je značajan faktor koji omogućuje nastanak raka kože iz transformiranih stanica.³⁸

UVB zračenje suzbija imunitet s linearnim odnosom doze i efekta, odnosno, veće količine UVB zračenja dovode do jače imunosupresije. Pokazano je da se fiziološki relevantne doze imunosupresije uzrokovane UVB zračenjem mogu postići bez da dođe do nastanka prekomjerne količine eritema. Za UVA taj odnos doze i efekta prati Gaussovu krivulju, odnosno, nakon izlaganja dozi UVA zračenja (320-400 nm) od 1,7 J cm⁻², koja odgovara 5 minutnom izlaganju suncu oko podneva, došlo je do imunosupresije, dok za veće doze nije. Stoga je pokazano da manje doze UVA zračenja, koje se postižu tijekom normalnih dnevnih aktivnosti, imaju vrlo imunosupresivan učinak. Moguće objašnjenje za Gaussov oblik krivulje ovisnosti doze UVA zračenja i stupnja imunosupresije jest to, da dok srednje doze UVA zračenja uzrokuju imunosupresivne mehanizme, veće doze bi mogle uzrokovati mehanizme koji im se suprotstavljaju. Primjerice: nastajanje ROS pri manjim dozama i indukcija proizvodnje antioksidativnih enzima pri većima.

Akcijski spektar je graf ovisnosti nekog biološkog efekta o valnoj duljini svjetlosti. Slika 7 prikazuje akcijski spektar za UV induciranu imunosupresiju kod ljudi, dobiven mjerenjima s

izvorima UV zračenja uskog raspona valnih duljina. Najefektivnije valne duljine za supresiju imuniteta kod ljudi su 310 nm (UVB) i 370 nm (UVA), dok zračenje valnih duljina između 330 i 350 nm nije uzrokovalo imunosupresiju. Pri dozama ekvivalentnim 15-20 minutnim izlaganjem standardnom podnevnom sunčevom zračenju, pokazano je da UVA ima otprilike trostruko veći učinak na imunosupresiju od UVB, ali pri većim dozama taj učinak opada. Zaključak tih rezultata jest da UVA ima veći učinak na imunosupresiju prilikom normalnih svakodnevnih aktivnosti, dok se učinak UVB zračenja ističe prilikom aktivnosti koje uključuju duže izlaganje suncu. Zanimljivo je da se akcijski spektar za eritem ($\lambda_{\max} = 299$ nm) dijelom preklapa s onim za imunosupresiju induciranom UVB dijelom zračenja ($\lambda_{\max} = 310$ nm), što bi moglo sugerirati da su u oba procesa uključeni isti zajednički mehanizmi. Jedan od tih mehanizama mogao bi biti nastanak CPD i popratnih reakcija. Smatra se da je nastanak CPD povezan s eritemom zbog toga što akcijski spektar nastanka CPD ima maksimum na 300 nm, koji se gotovo preklapa s onim za eritem, odnosno DNA je kromofor koji apsorpcijom tog dijela UV zračenja (UVB) dovodi do nastanka CPD, što naposljetku uzrokuje eritem. Također dolazi do preklapanja dijela akcijskih spektara za formiranje ROS, kao i posljedičnog nastanka 8-oksoG s UVA dijelom akcijskog spektra imunosupresije, sugerirajući njihovu povezanost.

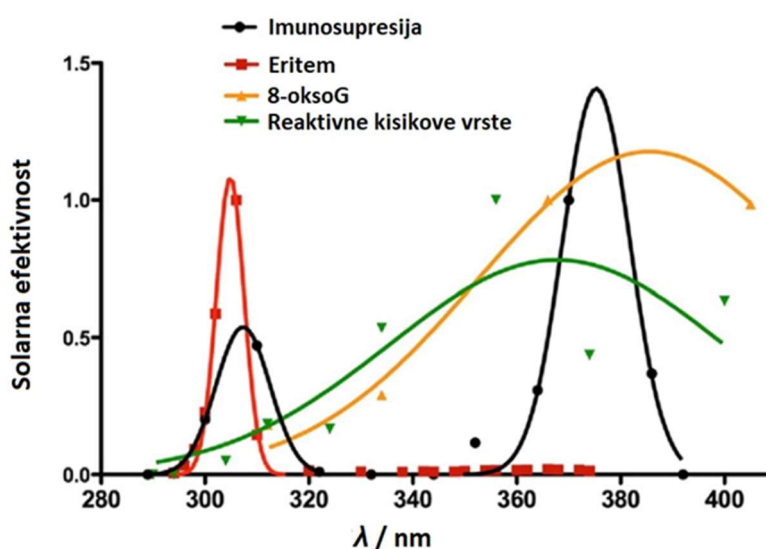
Dosad su promatrani zasebni utjecaji UVA i UVB zračenja na imunosupresiju, no, ona imaju sinergistički efekt. Simulirano solarno zračenje pokazalo je veće razine imunosupresije od onih nastalih zasebnim utjecajem UVA ili UVB zračenja.³⁸

Da su CPD, nastali pod utjecajem bilo UVA ili UVB zračenja, zaslužni za indukciju imunosupresivnih mehanizama, pokazao je eksperiment u kojemu je nanošenje liposoma, koji su sadržavali T4-endonukleazu V (T4N5, bakterijski enzim koji inicira popravak CPD), topikalno na ljudsku kožu ozračenu UV svjetlošću spriječilo imunosupresiju.³⁹ Eksperiment s miševima u kojemu je pomoću mimetika superoksid dismutaze inhibirano nastajanje ROS, a time uspješno potisnuta imunosupresija, pokazao je da je nastajanje ROS barem jedan od mehanizama kojim UVA potiče imunosupresiju.⁴⁰

Langerhansove stanice u epidermi imaju značajnu ulogu u homeostazi imunološkog sustava. One pakupe antigene iz epiderme i procesiraju ih, zatim migriraju do limfnih žlijezda, gdje aktiviraju razne imunološke odazive. Funkcionalna i morfološka promjena Langerhansovih stanica nakon izlaganja kože UV zračenju dovodi do smanjenja njihovog broja u epidermi.⁵

Još jedan mehanizam, kojim se uspostavlja imunosupresivan efekt UV zračenja, mogao bi uključivati niže količine ATP (adenozin trifosfata) nastalih u keratinocitima, što dovodi do niže

razine imuniteta. UV inducirana oštećenja dovode do aktivacije PARP1 (engl. *poly [ADP-ribose] polymerase 1*), enzima s ključnom ulogom u popravku DNA i održavanju genomske stabilnosti. Kako je NAD^+ (nikotinamid adenin dinukleotid) supstrat za PARP1, dolazi do crpljenja zalihe NAD^+ u stanici, a to pak dovodi do zastoja glikolitičkog puta, koji se bez prisustva NAD^+ ne može odvijati. Uzevši u obzir da je glikoliza primarni put koji mitohondriju dovodi piruvat, njen zastoj uzrokuje inhibiciju funkcije mitohondrija i samim time sintezu ATP. Niže količine ATP uslijed izlaganja kože UV zračenju također bi mogle biti posljedica toga da stanice troše veće količine ATP prilikom popravka UV induciranih oštećenja DNA. Nadalje, ROS nastale uslijed UV zračenja mogu oštetiti mitohondrijsku membranu što može dovesti do prekida oksidativne fosforilacije i funkcije mitohondrija, a samim time i niže razine ATP u stanici. Manjak ATP kompromitira popravak oštećenja DNA, što, osim mutacija, može dovesti i do imunosupresije, a ta dva efekta zajedno omogućuju razvoj i rast raka kože. Uspostavljeno je da nikotinamid sprječava imunosupresiju uzrokovanu UVA zračenjem. Zaštitna uloga nikotinamida, kao prekursora za NAD^+ , vjerojatno leži u činjenici da je NAD^+ ključan kofaktor u proizvodnji ATP na način da omogućuje oksidoredukcijske reakcije u kojima djeluje kao prenositelj elektrona. Povrh toga, nikotinamid je inhibitor enzima PARP1, što naposljetku prevenira UV inducirani zastoj glikolitičkog puta te na taj način omogućuje proizvodnju ATP tim metaboličkim putem i usto omogućuje odvijanje ciklusa limunske kiseline. Imunosupresiju također sprječava riboflavin, prekursor flavin mononukleotida (FMN) i flavin adenin dinukleotida (FAD), prostetičkih skupina flavoproteina, koji igraju ključnu ulogu u oksidoredukcijskim reakcijama elektron transportnog lanca te na taj način omogućuju dobivanje ATP oksidativnom fosforilacijom. UV inducirana modulacija staničnih puteva dobivanja energije mogla bi biti ključan mehanizam kojim UV zračenje dovodi do imunosupresije.^{38, 68-70}



Slika 7. Akcijski spektar imunosupresije u usporedbi s akcijskim spektrima nastanka eritema, 8-oksoG te reaktivnih kisikovih vrsta. Svaki od akcijskih spektara normiran je na jedinicu u svom maksimumu. (Preuzeto i prilagođeno prema ref. (38))

2.13. Kancerogeneza kože

Rak kože jedan je od najčešćih oblika raka kod ljudi, s rastućim brojem zabilježenih slučajeva u zadnjih nekoliko desetljeća. Može se podijeliti u tri kategorije, ovisno o vrsti stanice u kojoj je došlo do pojave karcinoma: rak bazalnih stanica (BCC, engl. *basal cell carcinoma*); rak pločastih stanica (SCC, engl. *squamous cell carcinoma*) i melanom, odnosno rak melanocita (MM, engl. *malignant melanoma*). BCC i SCC, nastali iz epidermalnih keratinocita, često se zajedno svrstavaju u posebnu kategoriju karcinoma koji nije melanom (NMSC, engl. *nonmelanoma skin cancer*). Melanom je najagresivniji oblik raka kože, o čemu govori činjenica da iako čini manje od 10% slučajeva raka kože općenito, rezultira u daleko najvećem broju smrtnih slučajeva od svih vrsta karcinoma kože. Također mu je svojstveno rano metastaziranje. SCC također posjeduje mogućnost metastaziranja, dok je za BCC metastaziranje gotovo nemoguće.⁴¹ Manja smrtnost kod BCC i SCC se pripisuje tome, što uglavnom ostaju na svom prvobitnom mjestu nastanka, što čini rukovanje njima relativno jednostavnim. Epidemiološki podaci te istraživanja na molekularnoj razini pokazala su čvrstu povezanost između izloženosti UV zračenju i svih tipova raka kože. Procjenjuje se da je UV zračenje uzrok za oko 65% slučajeva melanoma i 90% slučajeva NMSC.⁸

Susceptibilnost k razvijanju raka kože blisko je povezana sa stupnjem pigmentacije kože pojedinca, odnosno njegovom fototipu (*vide ante* - Fitzpatrickov fototip kože). Fototipovi nižih brojeva, svjetlije kože koja je osjetljivija na sunce te slabo ili uopće ne tamni, skloniji su razvoju karcinoma kože od fototipova tamnije kože, koji imaju veću toleranciju na sunce. Pigmentiranost kože asocirana je s količinom melanina u keratinocitima. Da je količina melanina povezana s razinom rizika realizacije karcinoma kože pokazuje činjenica da nesposobnost stvaranja melanina, odnosno njegov potpuni izostanak kod albinizma dovodi do veće stope NMSC.⁴¹

Rak nastaje kao posljedica poremećaja u signalnim putevima koji kontroliraju stanični ciklus, diferencijaciju i apoptozu. Ti signalni putevi uključuju kaskade raznih reakcija koje naposljetku dovode do aktivacije ili inaktivacije određenih staničnih procesa, najčešće na način da se potiče ili utiša transkripcija određenih gena. UV zračenje može dovesti do poremećaja u tim signalnim putevima, tako da ošteti proteine koji sudjeluju u njima ili pak njihove mRNA. Takva oštećenja nisu trajna zbog toga što proteini bivaju razgrađeni i ponovno sintetizirani, odnosno postoji obrtaj proteina u stanicama. Tako je i oštećena mRNA samo privremena neprilika. No ukoliko su takva oštećenja ili interferencije uzastopne, može doći do značajnog efekta. S druge strane, ako je došlo do oštećenja DNA i posljedične mutacije, unutar gena koji kodira za protein, nastaje trajna promjena u genetičkoj informaciji koja se prenosi na stanice-kćeri tijekom diobe stanica. Mutacije u dviju vrsta gena od posebnog su značaja u kancerogenezi: proto-onkogeni, koji mutiranjem postaju onkogeni, zaslužni za nekontrolirani rast i diobu stanica te tumor supresorski geni, čiji proteini igraju ključnu ulogu u supresiji progresije raka.⁴² *TP53* tumor supresorski gen je najčešći mutirani gen u svim vrstama karcinoma kod ljudi. Gubitak njegove funkcije uzrok je inhibicije apoptoze, što dozvoljava replikaciju DNA i dijeljenje stanica usprkos nepopravljenih oštećenja i naposljetku dovodi do povećanog rizika od maligne transformacije. Mutacija *TP53* gena također dovodi do genetske nestabilnosti i aneuploidije, učestale pojave kod raznih karcinoma.^{18,28}

Zbog obilja UV mutacijskih potpisa u proto-onkogenima i tumor supresorskim genima u mnogim uzorcima raka kože, može se zaključiti da je UV zračenje agens koji uzrokuje rak.⁸ Doista, Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC, engl. *International Agency for Research on Cancer*) klasificirala je solarno i umjetno UV zračenje (poput onoga u solariju) kao kancerogen.⁴³ Kancerogeneza se općenito može podijeliti u tri faze: inicijacija, promocija

i progresija. UV zračenje se ponaša kao inicijator i promotor tumora te uz sposobnost imunosupresije ono ima izrazito velik utjecaj na kancerogenezu.^{18,44}

2.14. Tamnjenje i eritem

Izlaganje UV zračenju dovodi do fakultativne melanogeneze, odnosno povećanja pigmentacije iznad konstitutivne razine te se smatra da je taj proces dio eukariotskog SOS odgovora.^{45,46} Unutar nekoliko minuta izlaganja kože UV zračenju, kao odgovor na niske doze ($1-5 \text{ J cm}^{-2}$), pojavljuje se izravno tamnjenje pigmenta (IPD, engl. *immediate pigment darkening*), koje nestaje u roku od 10 do 20 minuta. Pri većim dozama ($>10 \text{ J cm}^{-2}$) javlja se trajno tamnjenje pigmenta (PPD, engl. *persistent pigment darkening*), koje ostaje do 24 sata. IPD i PPD nisu rezultat sinteze novog melanina, već su posljedica oksidacije i polimerizacije postojećeg melanina kao i redistribucije postojećih melanosoma. Zakašnjelo tamnjenje (DT, engl. *delayed tanning*) pojavljuje se 72 sata nakon izlaganja UV zračenju te uključuje sintezu novog melanina.^{13,47} Mehanizam zakašnjelog tamnjenja uključuje aktivaciju MC1R vezanjem agonista α -MSH, melanokortina kojeg proizvode keratinociti nakon izlaganja UV zračenju. Vezanje α -MSH izaziva konformacijsku promjenu na receptoru i aktivira G-protein, čija alfa podjedinica zatim asocira s adenilat-ciklazom i aktivira ju te dolazi do stvaranja cAMP. To pak dovodi do aktivacije kaskade protein-kinaze A (PKA, engl. *protein kinase A*), što naposljetku dovodi do povećane brojnosti i/ili aktivnosti enzima koji sudjeluju u proizvodnji i eksportu melanina u melanocitima. Kao posljedica toga epiderma biva bogatija na melaninu koji štiti kožu od daljnjeg negativnog utjecaja UV zračenja. Osim što utječe na pigmentaciju kože, aktivacija signalnog puta MC1R smanjuje mutagenozu posredovanu UV zračenjem na način da uzrokuje pojačanu prismotru i održavanje genoma od strane popravkih enzima NER mehanizma.^{8,19} *MC1R* je visoko polimorfni gen, a njegove defektne varijante uzrokuju smanjenu proizvodnju eumelanina, što se očituje u svijetloj boji kože i većoj osjetljivosti na UV zračenje.¹²

Istraživanja su pokazala su da DNA oštećenja i njihov popravak u ljudskim melanocitima mogu inducirati melanogenezu.⁴⁸ Izlaganje ljudskih melanocita timidinskim dinukleotidima, koji oponašaju fragmente DNA izrezane prilikom njena popravka, također je dovelo do povećane razine melanina.⁴⁹ Akcijski spektar za melanogenezu i eritem u ljudskoj koži, dobiveni jednokratnim izlaganjem UV zračenju, vrlo su slični te se podudaraju na valnim duljinama iznad 300 nm, što sugerira slične mehanizme koji dovode do eritema i melanogeneze. Porastom valnih duljina zračenja iznad 300 nm potrebna je sve veća ozračenost (J cm^{-2}) za

indukciju eritema i melanogeneze, to jest UVB zračenje je mnogo efikasnije od UVA zračenja u induciranju eritema i melanogeneze.^{50,51} Usporedivši akcijski spektar eritema i formacije CPD u ljudskoj koži sugerira da je oštećenje DNA barem jedan od okidača nastanka eritema^{52,53} kao i melanogeneze, prema njihovoj izrazitoj spektralnoj sličnosti. Zanimljivo je da XP pacijenti, koji imaju inaktivan NER mehanizam, pokazuju ustrajan eritem.⁵⁴

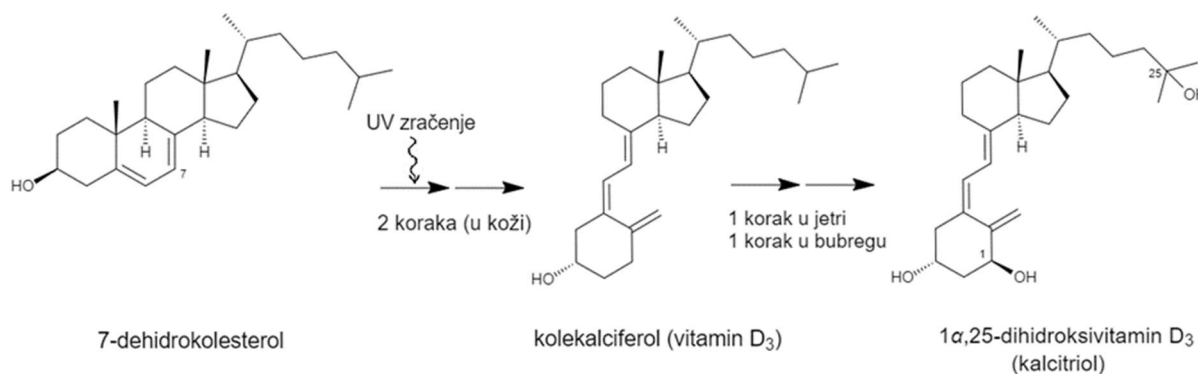
Opekline nastale od sunca su akutna upala i crvenilo nastali kao odgovor na UV zračenje. Očituje se s osjećajem topline, boli, oticanjem te vazodilatacijom (proširenje krvnih žila) koje uzrokuje karakteristični eritem. Sunčani eritem uzrokovan UVB zračenjem postaje vidljiv između 3 do 6 sati nakon izloženosti UV zračenju, dostiže maksimum između 12 i 24 sata te nakon 48 sati počinje nestajati. S druge strane, UVA zračenje uzrokuje eritem odmah nakon izlaganja i postepeno nestaje u roku od 48 do 72 sata.⁴⁷ Važna popratna promjena uz eritem su apoptotske stanice keratinocita u epidermi (SBC, engl. *sunburn cells*).^{55,56} One nastaju u sklopu obrambenog mehanizma kako bi se eliminirale stanice s nepopravljivim oštećenjem na DNA, kao što je već spomenuto prije. SBC nastaju uslijed izlaganja dozama UV zračenja koje su jednake ili veće od MED, koja varira od pojedinca do pojedinca. Proces indukcije SBC je kontroliran pomoću tumor supresorskog gena *TP53*.⁵⁶

Popularno je uvjerenje da tamnjenje uzrokovano UV zračenjem pruža adekvatnu dodatnu fotozaštitu, no eksperimentalni podaci sugeriraju da fotooštećenja nastala u procesu prevaguju stečenu fotozaštitu. Kumulativno oštećenje DNA nastalo prilikom ostvarivanja i održavanja tena predstavlja važan rizik koji treba uzimati u obzir.⁵⁵

2.15. Sinteza vitamina D

Vitamin D₃ (kolekalciferol), usprkos samog naziva, zapravo nije vitamin, već je prohormon koji se sintetizira u epidermi iz 7-dehidrokolesterola (7-DHC, engl. *7-dehydrocholesterol*). 7-DHC je steroid koji nastaje dehidrogenacijom kolesterola, a nalazi se u staničnoj membrani keratinocita. UVB zračenje pokreće reakciju fotolize 7-DHC kojom nastaje previtamin D, koji onda spontanom izomerizacijom prelazi u stabilniji oblik, vitamin D₃. Sam vitamin D₃ nije biološki aktivan. Krvotokom se vitamin D₃ prenosi do jetre, gdje se hidroksilira u 25-hidroksivitamin D₃, nakon čega u bubregu slijedi pretvorba u biološki aktivan oblik, 1 α ,25-dihidroksivitamin D₃ (kalcitriol) (slika 8). 1 α ,25-dihidroksivitamin D₃ je hormon koji regulira apsorpciju kalcija u crijevima, koncentraciju kalcija i fosfora u krvnoj plazmi i razinu kalcija u kostima.^{29,57,58} Nedostatak vitamina D povezan je s raznim poteškoćama i poremećajima.⁶⁰ Izlaganje UV zračenju glavni je izvor vitamina D kod većine ljudi, no vitamin D se također

može unijeti prehranom.²⁹ Količina melanina u epidermi utječe na biosintezu vitamina D, zbog toga što se natječe sa 7-DHC za apsorpciju fotona UV zračenja. Iz tog razloga pojedinci tamnijeg fototipa kože sintetiziraju manju količinu vitamina D od onih svjetlije fototipa prilikom izlaganja istoj količini UV zračenja.⁵⁹



Slika 8. UV zračenje pokreće fotokemijsku reakciju sinteze vitamina D₃ iz 7-dehidrokolesterola, nakon čega se enzimima u jetri i bubregu pretvara u biološki aktivan oblik, 1α,25-dihidroksivitamin D₃. (Prilagođeno prema ref. (57))

2.16. Fotostarenje

Fotostarenje je ekstrinzično, preuranjeno starenje uzrokovano izlaganjem UV zračenju. Karakterizirano je pojavom bora, gubitkom elastičnosti, nepravilnom i pjegavom pigmentacijom, gubitkom vlažnosti kože i tako dalje. Kako je kolagen u dermi jedna od ključnih sastavnica za strukturnu potporu, volumen i gipkost kože, gubitak kolagena dovodi do njena opuštanja. Intrinzičnim, odnosno kronološkim starenjem smanjuje se količina kolagena u dermi, a vanjski utjecaji poput UV zračenja mogu dodatno pojačati taj efekt. Već je spomenuto da ROS oštećuju proteine pa tako osim staničnih proteina mogu oštetiti i izvanstanične proteine, poput kolagena, oksidirajući i degradirajući ih. No UV zračenje utječe na razinu kolagena i na drugi način. Izlaganje UV zračenju aktivira membranske receptore i tako inicira signalne puteve koje dovode do aktivacije AP-1 (engl. *activator protein 1*), transkripcijskog faktora koji pojačava transkripciju metaloproteinaza matriksa (MMP, engl. *matrix metalloproteinases*) poput kolagenaze MMP-1, enzima koji hidrolizira i degradira kolagen.⁶¹ Doze UVB zračenja mnogo manje od onih koje induciraju eritem (oko 0,1 MED) dovoljne su kako bi došlo do aktivacije metaloproteinaza matriksa u ljudskoj koži.⁶² Također je pokazano da je pojačana ekspresija MMP-1 uslijed izlaganja UVA zračenju ovisna o formiranju ROS.^{63,64} Degradacija

kolagena uglavnom nije potpuna te se fragmenti kolagena akumuliraju u dermi. Na taj način integritet strukture kože biva narušen. Dodatan negativan popratni efekt jest da ti produkti degradacije kolagena inhibiraju sintezu novoga.^{61,65} Pokazano je da antioksidansi poput askorbinske kiseline u značajnoj mjeri preveniraju inhibiciju biosinteze kolagena uslijed izlaganja UV zračenju,⁶⁶ što pokazuje značaj ROS u sintezi kolagena i fotostarenju. Stupanj akumuliranog izlaganja sunčevom odnosno UV zračenju određuje opsežnost fotostarenja.⁶⁷

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. <https://physics.info/em-spectrum/> (datum pristupa 29. svibnja 2020.)
2. <https://www.who.int/uv/publications/en/UVIGuide.pdf> (datum pristupa 2. lipnja 2020.)
3. <https://www.skincancer.org/risk-factors/uv-radiation/> (datum pristupa 2. lipnja 2020.)
4. M. Moehrle, M. Soballa, M. Korn, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **19** (2003) 175-181.
5. M. Brenner, V. J. Hearing, *Photochem. Photobiol.* **84** (2008) 539-549.
6. C. Soutor, M. Hordinsky, *Clinical Dermatology* (First Edition), McGraw-Hill Education, New York, 2013, str. 1-5.
7. F. Solano, *New J. Sci.* **2014** (2014) 1-28.
8. J. D'Orazio, S. Jarrett, A. Amaro-Ortiz, T. Scott, *Int. J. Mol. Sci.* **14** (2013) 12222-12248.
9. S. Ito, K. Wakamatsu, *Photochem. Photobiol.* **84** (2008) 582-592.
10. A. Slominski, D. J. Tobin, S. Shibahara, J. Wortsman, *Physiol. Rev.* **84** (2004) 1155-1228.
11. M. Brenner, V. J. Hearing, *Drug Discovery Today: Dis. Mech.* **5** (2008) 189-199.
12. E. M. Wolf Horrell, M. C. Boulanger, J. A. D'Orazio, *Front. Genet.* **7** (2016), <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2016.00095/full> (datum pristupa 4. kolovoza 2020.)
13. Y. Yamaguchi, M. Brenner, V. J. Hearing, *J. Biol. Chem.* **282** (2007) 27557-27561.
14. A. V. Rawlings, *Int. J. Cosmet. Sci.* **28** (2006) 79-93.
15. D. Scherer, R. Kumar, *Mutat. Res., Rev. Mutat. Res.* **705** (2010) 141-153.
16. T. B. Fitzpatrick, *Arch. Dermatol.* **124** (1988) 869-871.
17. A. R. Young, J. Claveau, A. B. Rossi, *J. Am. Acad. Dermatol.* **76** (2017) 100-109.
18. M. M. Valejo Coelho, T. R. Matos, M. Apetato, *Clin. Dermatol.* **34** (2016) 563-570.
19. A. Q. Khan, J. B. Travers, M. G. Kemp, *Environ. Mol. Mutagen.* **59** (2018) 438-460.
20. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry* (Sixth Edition), W. H. Freeman and Company, New York, 2013, str. 286.
21. S. Mouret, C. Baudouin, M. Chaveron, A. Favier, J. Cadet, T. Douki, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103** (2006) 13765-13770.
22. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry* (Sixth Edition), W. H. Freeman and Company, New York, 2013, str. 1027-1033.

23. J. Cadet, A. Grand, T. Douki, *Top. Curr. Chem.* **356** (2014) 249-275.
24. S. Premi, D. E. Brash, *DNA Repair* **44** (2016) 169-177.
25. P. Karran, R. Brem, *DNA Repair* **44** (2016) 178-185.
26. Y. Matsumura, H. N. Ananthaswamy, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **195** (2004) 298-308.
27. M. Fousteri, A. van Hoffen, H. Vargova, L. H. F. Mullenders, *DNA Repair* **4** (2005) 919-925.
28. J. M. Matés, J. A. Segura, F. J. Alonso, J. Márquez, *Arch. Toxicol.* **86** (2012) 1649-1665.
29. E. D. Baron, A. K. Suggs, *Dermatol. Clin.* **32** (2014) 255-266.
30. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry* (Sixth Edition), W. H. Freeman and Company, New York, 2013, str. 907.
31. S. C. Lu, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **1830** (2013) 3143-3153.
32. <http://pdb101.rcsb.org/motm/57> (datum pristupa 24. srpnja 2020.)
33. E. Markkanen, *DNA Repair* **59** (2017) 82-105.
34. G. Emri, G. Paragh, A. Tószaki, E. Janka, S. Kollár, C. Hegediús, E. Gellén, I. Horkay, G. Koncz, E. Remenyik, *J. Photochem. Photobiol., B* **185** (2018) 169-175.
35. W. Peng, B. R. Shaw, *Biochemistry* **35** (1996) 10172-10181.
36. G. P. Pfeifer, Y.-H. You, A. Besaratinia, *Mutat. Res.* **571** (2005) 19-31.
37. D. E. Brash, *Photochem. Photobiol.* **91** (2015) 15-26.
38. G. M. Halliday, S. N. Byrne, D. L. Damian, *Semin. Cutaneous Med. Surg.* **4** (2011) 214-221.
39. J. M. Kuchel, R. St. C. Barnetson, G. M. Halliday, *Photochem. Photobiol. Sci.* **4** (2005) 577-582.
40. K. S. Yuen, M. R. Nearn, G. M. Halliday, *Nitric Oxide* **6** (2002) 313-318.
41. H. W. Lim, H. Hönigsmann, J. L. M. Hawk, *Photodermatology*, Informa Healthcare USA, New York, 2007, str. 108-109.
42. F. R. de Gruijl, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* **15** (2002) 316-320.
43. F. El Ghissassi, R. Baan, K. Straif, Y. Grosse, B. Secretan, V. Bouvard, L. Benbrahim-Tallaa, N. Guha, C. Freeman, L. Galichet, V. Coglianò, WHO IARC Monograph Working Group, *Lancet Oncol.* **10** (2009) 751-752.
44. T. M. Rüniger, *J. Invest. Dermatol.* **136** (2016) 1751-1752.
45. M. S. Eller, T. Maeda, C. Magnoni, D. Atwal, B. A. Gilchrest, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94** (1997) 12627-12632.

46. M. S. Eller, B. A. Gilchrest, *Pigment Cell Res.* **13** (2000) 94-97.
47. H. W. Lim, H. Hönigsmann, J. L. M. Hawk, *Photodermatology*, Informa Healthcare USA, New York, 2007, str. 76-81.
48. B. A. Gilchrest, S. Zhai, M. S. Eller, D. B. Yarosh, M. Yaar, *J. Invest. Dermatol.* **101** (1993) 666-672.
49. M. S. Eller, K. Ostrom, B. A. Gilchrest, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93** (1996) 1087-1092.
50. N. Kollias, Y. H. Malallah, H. Al-Ajmi, A. Baqer, B. E. Johnson, S. González, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **12** (1996) 183-188.
51. J. A. Parrish, K. F. Jaenicke, R. Rox Anderson, *Photochem. Photobiol.* **36** (1982) 187-191.
52. A. R. Young, C. A. Chadwick, G. I. Harrison, O. Nikaido, J. Ramsden, C. S. Potten, *J. Invest. Dermatol.* **111** (1998) 982-988.
53. S. E. Freeman, H. Hacham, R. W. Gange, D. J. Maytum, J. C. Sutherland, B. M. Sutherland, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **86** (1989) 5605-5609.
54. R. J. W. Berg, H. J. T. Ruven, A. T. Sands, F. R. de Gruijl, L. H. F. Mullenders, *J. Invest. Dermatol.* **110** (1998) 405-409.
55. J. M. Sheehan, N. Cragg, C. A. Chadwick, C. S. Potten, A. R. Young, *J. Invest. Dermatol.* **118** (2002) 825-829.
56. G. Murphy, A. R. Young, H. C. Wulf, D. Kulms, T. Schwarz, *Exp. Dermatol.* **10** (2001) 155-160.
57. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry* (Sixth Edition), W. H. Freeman and Company, New York, 2013, str. 373.
58. H. F. DeLuca, *Nutr. Rev.* **66** (2008) 73-87.
59. R. Kift, J. L. Berry, A. Vail, M. T. Durkin, L. E. Rhodes, A. R. Webb, *Br. J. Dermatol.* **169** (2013) 1272-1278.
60. M. Wacker, M. F. Holick, *Dermatoendocrinol.* **5** (2013) 51-108.
61. H. W. Lim, H. Hönigsmann, J. L. M. Hawk, *Photodermatology*, Informa Healthcare USA, New York, 2007, str. 92-97.
62. G. J. Fisher, S. C. Datta, H. S. Talwar, Z. Q. Wang, J. Varani, S. Kang, J. J. Voorhees, *Letters to Nature* **379** (1996) 335-339.
63. N. Buechner, P. Schroeder, S. Jakob, K. Kunze, T. Maresch, C. Calles, J. Krutmann, J. Haendeler, *Exp. Gerontol.* **43** (2008) 633-637.

64. C.-C. E. Lan, P.-Y. Ho, C.-S. Wu, R.-C. Yang, H.-S. Yu, *J. Dermatol. Sci.* **78** (2015) 125-132.
65. C.-C. Lan, Y.-T. Hung, A.-H. Fang, C.-S. Wu, *J. Dermatol. Sci.* **94** (2019) 220-228.
66. A. Gęgotek, K. Bielawska, M. Biernacki, I. Zaręba, A. Surazyński, E. Skrzydlewska, *Arch. Dermatol. Res.* **309** (2017) 285-303.
67. D. J. Tobin, *J. Tissue Viability* **26** (2017) 37-46.
68. J. Park, G. M. Halliday, D. Surjana, D. L. Damian, *Photochem. Photobiol.* **86** (2010) 942-948.
69. A. Svobodová, A. Zdařilová, J. Mališková, H. Mikulková, D. Walterová, J. Vostalová, *J. Dermatol. Sci.* **46** (2007) 21-30.
70. D. L. Damian, Y. J. Matthews, G. M. Halliday, *Photodermatol., Photoimmunol. Photomed.* **26** (2010) 66-69.