

DERİDE ANTİOKSİDAN MEKANİZMALAR ANTIOXIDANT MECHANISMS OF SKIN

Aysun Şikar Aktürk

Doç. Dr. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı
Yazışma Adresi: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Kocaeli.
e-posta: aysun9442@hotmail.com
Çıkar çatışması: Bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ABSTRACT

The skin, the outermost region of our body, is exposed to continuous environmental agents, especially ultraviolet radiation (UV). This leads to overproduction of free oxygen radicals and oxidative stress. Oxidative stress leads to damage to cellular components such as lipids, DNA and proteins. There are enzymatic (glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase) and nonenzymatic (glutathione, vitamin E, vitamin C, carotenoids, flavonoids and others) antioxidative defence mechanisms to remove harmful effects of free oxygen radicals on the skin. These mechanism have been evaluated in detail in this review.

Key words: Skin, free oxygen radicals, oxidative stress, antioxidants

ÖZET

Vücudumuzun en dış bölgesi olan derimiz ultraviyole (UV) radyasyon başta olmak üzere sürekli çevresel ajanlara maruz kalmaktadır. Bu durum deride aşırı miktarda serbest oksijen radikallerinin üretilmesine ve oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres deride lipitler, DNA ve proteinler gibi hücrel komponentlerde hasara yol açar. Deride serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için enzimatik (glutathion peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve nonenzimatik (glutathion, vitamin E, vitamin C, karotenoidler, flavonoidler ve diğerleri) antioksidatif savunma mekanizmaları mevcuttur. Bu derlemede bu mekanizmalar ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Deri, serbest oksijen radikalleri, oksidatif stres, antioksidanlar

GİRİŞ

Hayvanlar ve bitkilerde yaşam için gerekli olan oksijenin küçük bir miktarı hücrelerde oksidazlar tarafından metabolize edilirken, büyük bir kısmı ise mitokondrilerde enerji üretimi için elektron transportunda kullanılmaktadır. Bu transport sürecinde elektronların %1-2'si ise serbest oksijen

radikalleri (SOR)'ne ve reaktif nitrojen ürünlerine dönüşür. SOR'i mitokondri dışında sitokrom P450 metabolizması sırasında, peroksizomlarda, ve inflamatuvar hücre aktivasyonu sırasında endojen kaynaklı olarak üretilirken, ultraviyole (UV), X ve gamma ışınlarına maruziyet, hava kirliliği, ilaç ve çeşitli toksik maddelerin alınması gibi nedenlerle eksojen kaynaklı

olarak ta oluşabilmektedir.¹⁻³ Hücreler için hem zararlı hem de bir takım yararlı etkileri olan SOR'i moleküler oksijen (O₂), süperoksit anyonları (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikalleri (OH[·]), nitrik oksit (NO), peroksinitrit (ONOO⁻)'tir. Normal şartlarda SOR'i ile bunların zararlı etkilerinden hücreleri koruyan antioksidan savunma mekanizmaları tam bir denge halinde çalışmaktadır. Antioksidan savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılabilenden daha fazla miktarda SOR'nin üretilmesi veya antioksidan savunma mekanizmalarındaki yetersizlik oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres de lipitler, DNA ve proteinler başta olmak üzere hücresel komponentlerde hasara yol açarak hücre ölümü, enflamasyon ve malign transformasyona neden olur.¹⁻¹¹

Antioksidatif savunmada görevli olan moleküller enzimatik (glutation peroksidaz (GP), katalaz, süperoksit dismutaz (SOD)) ve nonenzimatik (glutation, vitamin C, vitamin E, beta-karoten, flavonoidler, vs) olmak üzere iki ana gruptan oluşmaktadır.^{1,2,5-7,10} Endojen ve eksojen kaynaklı olabilen antioksidanların 4 ayrı şekilde etki edebildiği bildirilmiştir. Bunlar;

1. **Toplayıcı etki:** SOR'ini tutma veya daha zayıf moleküllere çevirmek. Antioksidan enzimler bu yolla etki gösterirler.
2. **Bastırıcı etki:** SOR'ne hidrojen aktararak aktivitelerini azaltmak veya inaktif hale çevirmek. Vitaminler, flavonoidler bu tarz etkiye sahiptir.
3. **Zincir kırıcı etki:** SOR'nin zincirlerini kırıp fonksiyonlarını inhibe etmek.
4. **Onarıcı etki:** SOR'nin zararlı etkilerini onarmak.^{1,2}

Bir antioksidan molekül oksidan bir yapıyla reaksiyona girdiğinde antioksidatif kapasitesini kaybeder. Bu özelliğini tekrar kazanabilmesi için molekül ilk durumuna dönmek zorundadır. Antioksidan ağ ve döngüler sayesinde bu tekrar sağlanır. Bu ağ içindeki en önemli üç molekül vitamin C, vitamin E ve glutatyondur.²

İnsan vücudu ve çevre arasında yer alan derimiz UV ışınları başta olmak üzere eksojen ve endojen oksidan ajanlara sürekli maruz kalmaktadır. Bu maruziyet nedeniyle SOR'i UV ve oksijene maruz kalan tüm dokularda olduğu gibi deride de sürekli üretilmektedir.^{1,2,5,6} Deride oksidatif stresin en önemli nedenleri aşırı UV maruziyeti, yaşlanma, enflamasyon ve beslenme ozukluğudur.¹ Son yıllarda oksidatif stresin deri yaşlanması^{1,3,7,12-14} başta olmak üzere deri kanserleri,^{3,15} atopik dermatit,^{5,16} iritatan kontakt dermatit,⁵ psoriasis,^{17,18} rozasea, vitiligo, akne vulgaris gibi birçok inflamatuvar deri hastalığının etyolojisinde rolü olduğu bildirilmiştir.⁵

Derinin antioksidatif savunma kapasitesinin derinin sürekli dış çevreyle temas halinde olması ve dermal tabakanın biyolojik fonksiyonlarından dolayı iç organlardan daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Deride bulunan antioksidatif mekanizma ağı tam olarak anlaşılammış olup,⁶ antioksidatif savunmanın ilk olarak gerçekleştiği tabaka olan epidermiste antioksidanların dermise göre daha yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir.^{1,7} Deride yaşlanmayla beraber antioksidan ağ oksidatif stresle baş etmekte zorlanır.^{1,13} İleri yaşlarda deride oksidatif durumu dengelemek ve oksidatif hasarı en aza indirmek için endojen ve eksojen kaynaklı olabilen antioksidanlara ek olarak kozmetiklerin içerisinde topikal olarak ve terapötik amaçlı sistemik olarak ta antioksidanlar kullanılmaktadır.³

Endojen ve eksojen kaynaklı olabilen antioksidanlar

A.Enzimatik antioksidanlar

a.Glutatyon peroksidaz (GP): GP'ın selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız olmak üzere iki ayrı formu vardır. Glutatyon metabolizması antioksidatif mekanizmaların temel taşlarından biridir. GP'ın katalitik reaksiyona girdiği ve

katalazla rekabet ettiği substratı ise hidrojen peroksittir.²

b.Katalaz: Bitkilerde, hayvanlarda ve aerobik bakterilerde bulunan ve bir metalloenzim olarak bilinen katalaz redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili antioksidanlardan biridir. Hücre içinde peroksizomlarda yer alır. Toksik olan hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürmektedir.^{2,7} Katalaz antioksidan enzimler içinde en hızlı dönüştürme hızına sahip enzim olup, bir molekül katalaz her dakikada yaklaşık 6 milyon hidrojen peroksidi su ve oksijene çevirir.² Mevsimsel değişikliklerden etkilenen katalazın aktivitesi UV miktarına bağlı olarak yazın ve kışın değişebilir.⁷

c.Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit anyonunun (O_2^-) H_2O_2 'ye ve oksijene dönüşümünü sağlayarak bu radikallerin etkisini azaltan intraselüler en önemli antioksidan enzimdir. SOD enziminin etkinliğinde aktif bölgesini oluşturan çinko (Zn) önem taşımaktadır.² Mevsimsel değişikliklerden etkilenmeyen SOD'nin aktivitesi ise hep stabildir.⁷

B.Nonenzimatik antioksidanlar

a.Glutatyon: Karaciğerde sentezlenen tripeptit yapıda bir molekül olan glutatyon suda çözünen intraselüler bir antioksidandır. Doğrudan oksijen ve hidroksil radikallerini tutarak özellikle deriyi UV'ye karşı korumaktadır.^{2,7} Glutatyon aynı zamanda antioksidan enzimlerin kofaktörü olup oksidize antioksidanların yenilenmesine katkı sağlar.²

b.Vitamin C (Askorbik asit): Vitamin C ekstraselüler sıvılarda yoğun olarak bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Derinin tüm tabakalarında bulunmakla beraber epidermisteki miktarı dermistekinin 5 katı kadardır. Vitamin C hücre

membranları için güçlü bir antioksidan olup, bu etkisini vitamin E, antioksidan enzimler ve karotenoidlerle birlikte göstermektedir. Yapılan in vivo çalışmaların çoğunda vitamin C alınımının deriyi ultraviyole hasarına karşı koruduğu ve hücrelerde protein, lipit ve DNA'daki oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir.^{2, 9,19}

Vitamin C vücutta sentezlenmediği için mutlaka dışarıdan diyetle alınması gerekir. Yüksek dozlarda (2000 mg/gün) vitamin C'nin ne yararlı etkileri ne de zararlı etkileri tespit edilmemiştir. Ancak serum vitamin C düzeylerinin düşük olmasının riskli bireylerde prekanseröz lezyonların oluşum riskini arttığı bildirilmiştir.² Havayla temas ettiğinde hızla bozulan vitamin C'nin suda çözüldüğü için deriden emilimi de zordur. Son yıllarda yaşlanma karşıtı olarak güneş koruyucu ve kozmetiklerin içinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak hazırlanan formülasyonların hem vitamin C'nin stabilitesini koruyacak hem de molekülün deriden emilimini artıracak özelliklerde olması gerekir. Bu nedenle vitamin C'nin palmitat gibi stabil olan ester formları üretilmiştir. Ancak bu ürünler yüksek maliyete sahip olduğu için vitamin C içeren ürünler oldukça pahalıdır.¹³

Yapılan bir çalışmada lipofilik vitamin C derivelerinin (6-O-palmitoaskorbat) X ışınlarının indüklediği apoptoz ve oksidatif strese karşı keratinositleri L-askorbik asite göre daha iyi koruduğu tespit edilmiştir.⁹ Yapılan randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada vitamin C'yi de içeren 16 haftalık oral tedavinin (marin kompleks 20 mg, 54 mg vitamin C ve 4 g çinko/gün) yüz bölgesinde fotohasarı plaseboya göre belirgin azalttığı tespit edilmiştir.¹⁹

Ayrıca vitamin C'nin gen ekspresyonunu, apoptozu ve immün sistemi düzenlediği de gösterilmiştir.^{2,9} Shin ve ark. 'nın¹⁶ yaptığı bir çalışmada ise plasma vitamin C ve

epidermal seramidlerin düzeyinin azaldıkça atopik dermatit şiddetinin arttığı, vitamin C ve epidermal seramidler arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Kısaca epidermal bariyerin sağlanmasında da vitamin C'nin gerekli olduğu tespit edilmiştir.¹⁶ Bunların dışında kollagen sentezi için önemli bir vitamin olup, lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir.¹⁹

c.Vitamin E: Vitamin E sekiz farklı formu (alfa, beta, gama, tokotrienoller) bulunan yağda çözünen bir vitamindir.^{6,7,10,20} Bitkiler tarafından üretilir, bu nedenle vitamin C gibi diyetle alınması gerekir. En fazla vitamin E içeren gıdalar fındık, ıspanak, tam tahıllar, zeytinyağı ve ayçiçek yağıdır.^{6,20,21} En güçlü biyolojik antioksidan olan alfa tokoferol vitamin E'nin deride en fazla bulunan ve en aktif formudur. Vitamin C gibi vitamin E'de derinin tüm tabakalarında bulunmakta,⁶ yaşla birlikte miktarı azalmaktadır.⁷ Vitamin C ile birlikte özellikle hücre membranında yer alan lipitleri oksidatif hasara karşı korumaktadır.^{6,10,20} Öyleki; antioksidatif süreçte alfa tokoferol lipitlere ve lipit peroksil radikallerine labil hidrojen vererek tokoferol radikallerine dönüşür. Tokoferol radikalleri orijinal alfa tokoferole askorbik asit yardımıyla döner.²⁰ Yapılan çalışmalarda vitamin E'nin UV'ye karşı deriyi koruduğu ve antikanserojenik etkileri olduğu gösterilmiştir.^{6,15,20,21}

Vitamin E elli yıldan daha uzun süredir dermatolojide kullanılmakta olup özellikle birçok yaşlanma karşıtı kozmetik ürünün içinde % 0.5-1 oranlarında bulunmaktadır. Ancak hava ve ışıkla temas eder etmez stabilitesi bozulduğu için topikal olarak uygulandığı yanık, cerrahi skarlar, göz çevresi morlukları ve yara iyileşmesinde çokta etkili olmadığı görülmüştür. Topikal olarak uygulandığında kontakt dermatit, eritema multiforme ve ksantomatoz

reaksiyon gibi yan etkilere neden olduğu bildirilmiştir.²⁰

Vitamin E'nin sistemik olarak birçok hastalığın da tedavisinde kullanılması önerilmektedir. Sistemik olarak vitamin E'nin önerilen günlük dozu 6-10 mg alfa tokoferol veya eşdeğeridir. Normal diyetle beslenen sağlıklı erişkinlerde vücutta 4 yıl yetecek kadar vitamin E deposu bulunmaktadır. Günlük önerilen dozlarda herhangi bir yan etki bildirilmemekle beraber, son yapılan çalışmalarda vitamin E'nin günlük 400 IU ve üzerinde kullanılmasının ölüm riskini artırdığı ve bu nedenle kaçınılması gerektiği bildirilmiştir.²⁰

d.Karotenoidler: Karotenoidler birçok bitki ve mikroorganizmada bulunan pigmentlerdir. Altıyüz üzerinde doğal karotenoid mevcuttur. Karotenoidler içinde en potent olanı beta karoten olup hızla tekli oksijeni yakalar.^{2,22} Beta karoten en çok epidermiste bulunur ve deriye bronz bir renk verir. Karotenin bir kısmı A vitaminine dönüşerek hipervitaminsiz A'ya karşı vücudu korur.²² Karotenoidler düşük parsiyel oksijen basıncında antioksidatif özellik gösterirken, yüksek parsiyel oksijen basıncında prooksidan hale dönerler.²

Yapılan çalışmalarda özellikle beta karotenin lipitleri peroksidatif hasardan koruduğu ve transkripsiyonu düzenlediği gösterilmiştir. A vitamini ve beta karotenin UV'ye karşı koruyucu olduğu ve fotohasarlı deride kanser gelişimini engellediği de gösterilmiştir.^{13,22} Bir çalışmada domateste bol miktarda bulunan ve bir karoten derivativesi olan likopenin UVA'ya karşı deriyi koruduğu, fotodermatozlarda ve fotoyaşlanma karşıtı olarak tedavide kullanılabileceği bildirilmiştir.^{22,23} Ancak hangi dozlarda ve ne kadar süre kullanılacağı konusunda net bir bilgi yoktur.¹⁴

e. Alfa lipoik asit (ALA): ALA hem yağda hem de suda çözünen bu nedenle hem sitozolde hem de hücre membranında yaygın olarak bulunan oktanoik asitin disülfid derivativesidir. Diyetle alındıktan sonra hızla emilir ve birçok dokuda hızla dihidrolipoik asite (DHHLA) dönüşür. Gerek ALA gerekse DHHLA endojen ve eksojen antioksidanlar ile oksidize proteinleri onararak ve bakır, demir gibi redoks metallerinin şelasyonunu sağlayarak çok güçlü antioksidan etki gösterir. ALA ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler ve iskemik hastalıklar üzerine yapılmıştır.^{1,2} Deri yaşlanması, oksidatif stres üzerine ve deride ne tür etkileri olduğuna yönelik insanlarda yapılmış bir çalışma yoktur.¹

f. Polifenoller: Kırmızı-beyaz şarap, yeşil-siyah çay, meyve ve sebzelerde bulunan polifenoller diyetle alınan yaklaşık 13 grupta toplanmış 4000'e yakın bileşikten oluşmaktadır. Flavonoidler bu grup içindeki en önemli bileşiklerdir. Antioksidatif özellikleri nedeniyle özellikle kanser gelişimini önledikleri bildirilmiştir.² Dermatolojik açıdan yeşil çay polifenollerinin ve flavonoidlerin deride UVB'ye bağlı oluşan immünsüpresyonu ve kanser gelişimini engellediği gösterilmiştir.¹³ Bazı çalışmalarda ise plaseboya herhangi bir üstünlüğü gösterilememiştir.²⁴ Birçok flavonoid ve fenolik içeriği olan ürünün güvenli olduğu söylene de toksik olan flavonoid- ilaç etkileşimi, karaciğer yetmezliği, kontakt dermatit, hemolitik anemi gibi yan etkilerde bildirilmiştir.²

g. Koenzim Q-10 (Ubiquinon): Endojen sentezlenen ve yağda çözünen ve tüm hücre membranlarında bulunan bir antioksidan olup vitamin E ile sinerji içinde çalışır.¹

h. Melatonin: Epifiz bezinde serotonininden sentezlenen hidroksil radikalini ortadan kaldıran en güçlü antioksidan olarak kabul

edilmektedir. Lipofilik olmasından dolayı hücrelerin her bölgesinde geniş bir antioksidan aktiviteye sahiptir. Yaşlanmayla beraber üretimi azalan melatoninin yaşlanmaya bağlı oluşan hastalıkların etyolojisinde rolü olabileceği bildirilmiştir.^{1,10}

Sonuç olarak; aeroik yaşamda diğer organlarda olduğu gibi deride de SOR'nin oluşumu ve oksidatif stres kaçınılmazdır. Özellikle deri yaşlanması ve karsinogenezde önemli olan oksidatif stresle baş etmek için görevli olan birçok endojen ve eksojen kaynaklı antioksidatif savunma mekanizması mevcuttur. Son yıllarda yaşlanmayı engelledikleri için antioksidanlara ilgi artmış, bu nedenle SOR ve oksidatif stresin incelendiği çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak yapılan bu çalışmaların çoğu hayvan çalışması olup deriden daha çok diğer organ sistemlerini ilgilendirmektedir. Deri üzerine yapılmış az sayıdaki çalışmada ise fotoyaşlanma üzerine oksidatif stresin etkileri olduğu ve antioksidanların bunu engelleyebildiği tespit edilmiştir. Derideki antioksidan ağına daha iyi anlaşılması, antioksidanların deri üzerine olan etki ve yan etkilerinin daha iyi tespit edilebilmesi için çok sayıda plasebo kontrollü insan çalışmalarının yapılmasına gerek vardır.

KAYNAKLAR

1. Podda M, Grundmann-Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. Clin Exper Dermatol 2001; 26: 578-82.
2. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact 2006; 160: 1-40.
3. Wölfle U, Seelinger G, Bauer G, et al. Reactive molecule species and antioxidative mechanisms in normal skin and skin aging. Skin Pharmacol Physiol 2014; 27: 316-32.

4. Granot E, Kohen R. Oxidative stress in childhood-in health and disease states. *Clin Nutr* 2004; 23: 3-11.
5. Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003; 17: 663-9.
6. Tsai FJ, Wang YD, Chen CC, et al. Evaluation of the antioxidative capability of commonly used antioxidants in dermocosmetics by in vivo detection of protein carbonylation in human stratum corneum. *J Photochem Photobiol* 2012; 112: 7-15.
7. Lephart ED. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. *Age Res Rev* 2016; 31: 36-54.
8. Cals-Grierson MM, Ormerod AD. Nitric oxide function in the skin. *Nitric Oxide* 2004; 10: 179-93.
9. Xiao L, Miwa N. The lipophilic vitamin C derivate, 6-O-Palmitoylascorbate protects human keratinocytes and 3D-human skin equivalents against X-ray-induced oxidative stress and apoptosis more markedly than L-Ascorbic acid. *J Cell Biol* 2016; 9999: 1-12.
10. Fusco D, Collaca G, Cesari M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2007; 2: 377-87.
11. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *J Dermatol Sci* 2001; 27: 1-4.
12. Emri G, Horkay I, Remenyik E. The role of free radicals in the UV-induced skin damage. *Photo-aging. Orv Hetil* 2006; 23: 731-5.
13. Yaar M, Gilchrist BA. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol* 2007; 157: 874-87.
14. Biesalski HK, Obermueller-Jevic UC. UV light, beta-carotene and human skin-beneficial and potentially harmful effects. *ARCH Biochem Biophys* 2001; 389: 1-6.
15. Ichihashi M, Ahmed NU, Budiyanoto A, et al. Preventive effect of antioxidant on ultraviolet-induced skin cancer in mice. *J Dermatol Sci* 2000; 23: 45-50.
16. Shin J, Kim YJ, Kwon O, et al. Associations among plasma vitamin C, epidermal ceramide and clinical severity of atopic dermatitis. *Nutr Res Pract* 2016; 10: 398-403.
17. Şikar Aktürk A, Özdoğan HK, Bayramgürler D, et al. Nitric oxide and malondialdehyde levels in plasma and tissue of psoriasis patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 26: 833-7.
18. Yıldırım M, Inaloz HS, Baysal V, Delibaş N. The role of oxidants and antioxidants in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003; 17: 34-6.
19. Stephens TJ, Sigler ML, Hino PD, et al. A Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial evaluating an oral anti-aging skin care supplement for treating photodamaged skin. *J Clin Aesthet Dermatol* 2016; 9: 25-32.
20. Keen MA, Hassan I. Vitamin E in dermatology. *Indian Dermatol Online J* 2016; 7: 311-5.
21. Saral Y, Uyar B, Ayar A, Naziroğlu M. Protective effects of topical alpha-tocopherol acetate on UVB irradiation in guinea pigs: importance of free radicals. *Physiol Res* 2002; 51: 285-90.
22. Stahl W, Heinrich U, Aust O, et al. Lycopene-rich products and dietary photoprotection. *Photochem Photobiol Sci* 2006; 5: 238-42.
23. Grether-Beck S, Marini A, Jaenicke T, et al. Molecular evidence that oral supplementation with lycopene or lutein protects human skin against ultraviolet radiation: Results from a double-blinded, placebo-controlled, cross-over study. *Br J dermatol* 2016; Sep 23. doi: 10.1111/bjd.15080.

-
24. Janjua R, Munoz C, Gorell E, et al. A two-year, double-blind, randomized placebo-controlled trial of oral green tea polyphenols on the long-term clinical and histologic appearance of photoaging skin. *Dermatol Surg* 2009; 35: 1057-65.