# Određivanje koncentracija IL-6 i TNF-alfa u serumu te kortizola u slini bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka

**Pondeljak, Nives**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:127:517094

*Rights / Prava:* Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-28**

*Repository / Repozitorij:*

University of Zagreb School of Dental Medicine Repository



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Nives Pondeljak

# ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA IL-6 I TNF-ALFA U SERUMU TE KORTIZOLA U SLINI U BOLESNIKA S ALERGIJSKIM KONTAKTNIM DERMATITISOM ŠAKA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.

Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Nives Pondeljak

# ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA IL-6 I TNF-ALFA U SERUMU TE KORTIZOLA U SLINI U BOLESNIKA S ALERGIJSKIM KONTAKTNIM DERMATITISOM ŠAKA

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Prof.dr.sc. Liborija Lugović-Mihić

Izv. prof.dr.sc. Dalibor Karlović

Zagreb, 2022.

Sveučilište u Zagrebu

School of Dental Medicine

Nives Pondeljak

# DETERMINATION OF CONCENTRATION OF SERUM IL-6 AND TNF-ALPHA AND SALIVARY CORTISOL IN PATIENTS WITH ALLERGIC CONTACT HAND DERMATITIS

DOCTORAL DISSERTATION

Mentors:

Professor Liborija Lugović-Mihić, PhD

Associate Professor Dalibor Karlović, PhD

Zagreb, 2022.

Rad je ostvaren u: Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice.

**Lektor hrvatskog jezika:** Ena Čurić

**Lektor engleskog jezika:** Ena Čurić

**Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:**

1. Akademkinja Mirna Šitum; Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice
2. Izv. prof. dr. sc. Marija Buljan; Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice
3. Prof. dr. sc. Romana Čeović; Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb

**Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:**

1. Akademkinja Mirna Šitum; Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice
2. Izv. prof. dr. sc. Marija Buljan; Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice
3. Prof. dr. sc. Romana Čeović; Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu; Klinika za kožne i spolne bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb

**Datum obrane rada**: 09.11.2022.g.

Rad sadrži: 89 stranica
11 tablica
15 slika
CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

**Posveta i zahvale**

Ovaj rad posvećujem svojem suprugu Karlu i svojoj obitelji (roditeljima Dejanu i Ružici te sestrama Lučiji i Marti) koji su me ustrajno pratili na mojem akademskom putu i razvijanju te uvijek pružali nesebičnu podršku i razumijevanje.

Želim prije svega zahvaliti prof.dr.sc. Liboriji Lugović-Mihić i prof.dr.sc. Daliboru Karloviću na mentorstvu i stručnom vodstvu tijekom provođenja ovog istraživanja i izrade doktorske disertacije. Zahvaljujem im na stvaranju poticajne radne sredine i nesebičnom prenošenju znanja i iskustava prepoznatih i u inozemnim znanstvenim krugovima.
Zahvalu upućujem i svima koji su nesebično pružili svoju pomoć i znanje u provođenju tehničkog dijela ovog istraživanja, a to se ponajprije odnosi na gđu Nikolinu Mandušić, bacc.med.tech. s Klinike za kožne i spolne bolesti, Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice, gđu Milenu Hanžek, spec. med. biokemije i lab. med. s Kliničkog zavoda za kemiju, Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice te dr.sc. Blaženku Ladiku Davidović sa Zavoda za nuklearnu medicinu, Klinike za onkologiju i nuklearnu medicinu, Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice.

Posebnu zahvalu dajem Vesni Pondeljak zbog nesebične pomoći i utrošenog vremena u tehničkoj pripremi disertacije i sve popratne dokumentacije.

**Sažetak**

**Određivanje koncentracija IL-6 i TNF-alfa u serumu te kortizola u slini u bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka**

**Uvod:** Alergijski kontaktni dermatitis (AKD) negativno utječe na kvalitetu života (KŽ). U razjašnjavanju etiopatogenetskih čimbenika AKD-a, s psihoneuroimunološkog (PNI) aspekta, smatra se da kronični psihički stres (PS) utječe na hipotalamo-hipozifno-adrenalnu (HHA) os i proupalne citokine.

**Metodologija:** U 59 bolesnika s AKD-om šaka i 19 zdravih ispitivani je PS („Perciedved Stress Scale“ upitnikom (PSS)), neuroendokrini (jutarnji kortizol u slini) i imunosni čimbenici (serumski IL-6 i TNF-α), težina (“Hand Eczema Extent Score” (HEES)) i trajanje bolesti, KŽ („Dermatology Life Quality Index“ (DLQI)) te njihove razlike između bolesnika s atopijom i onih bez.

**Rezultati:** Bolesnici s AKD-om šaka imali su niži jutarnji kortizol u slini i viši PSS ($p >= 0,001$) od zdravih, bez razlike u IL-6 i TNF-α. Viši DLQI bio je povezan s višim HEES-om i PSS-om ($p=0,002$ i $p<0,001$) te su to bili jedini prediktori KŽ. Duljina trajanja bolesti nije bila povezana s ispitivanim čimbenicima. AKD bolesnici s atopijom imali su neznačajno viši IL-6, PSS i DLQI te niži kortizol u slini i HEES. Kortizol u slini i serumu pozitivno su korelirali ($p=0,004$).

**Zaključak:** Ovo je prvo istraživanje PNI čimbenika u KAKD-u koje podupire postojanje promjena u HHA osi i dokazuje utjecaj bolesti na KŽ te naglašava važnost multidisciplinarnog pristupa bolesnicima.

Ključne riječi: alergijski kontaktni dermatitis; kortizol u slini; psihički stres; IL-6; TNF-α

**Summary**

**Determination of concentration of serum IL-6 and TNF-alpha and salivary cortisol in patients with allergic contact hand dermatitis**

**Introduction:** Allergic contact dermatitis (ACD) is a form of late hypersensitivity reaction of skin contact with allergens. As an inflammatory skin disease, ACD has a negative impact on the quality of life and there is a need to elucidate the etiopathogenetic factors of the disease, whereby using the psychoneuroimmunological (PNI) approach can be helpful. Psychological stress (PS), as a component of PNI, leads to aggravation of the contact hypersensitivity reaction. In response to the perception of stress, cortisol secretion is enhanced by activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Furthermore, the proinflammatory cytokines interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF-α) play a role in activating the HPA axis as well as initiating and maintaining inflammatory responses. Recent studies show that IL-6, IL-1, and TNF-α values are increased in serum of patients with contact dermatitis, as well as in keratinocyte cell culture.

**Methods:** The study examined the association of PNI factors (morning salivary cortisol as a biomarker of stress, serum IL-6 and TNF-α, stress intensity with "Perceived Stress Scale" (PSS) questionnaire, quality of life of dermatology patients with "Dermatology Life Quality Index" (DLQI)) with the disease severity evaluated using the Hand Eczema Extent Score (HEES) and the duration of disease in hand ACD patients, as well as the differences between patients with ACD and atopic disease and those without atopy.

**Results:** This study examined the association of PNI factors (morning salivary cortisol as a biomarker of stress, serum IL-6 and TNF-α, stress intensity with "Perceived Stress Scale" (PSS) questionnaire, quality of life of dermatology patients with "Dermatology Life Quality Index" (DLQI)) with the disease severity evaluated using the Hand Eczema Extent Score (HEES) and the duration of disease in hand ACD patients, as well as the differences between patients with ACD and atopic disease and those without atopy.

**Conclusion:** This study is the first so far, to our knowledge, in which a detailed analysis of PNI factors in patients with hand ACD was conducted. The results show that patients with ACD have lower values of morning cortisol in saliva and higher stress intensity, which indicates changes in the balance of the HPA axis and indirectly affects the quality of life and severity of the clinical picture of teh disease. The results of the research provide more knowledge about

ACD and contribute to and emphasize the importance of a multidisciplinary approach to treatment, thus improving the quality of life of these patients.

Key words: allergic contact dermatitis; salivary cortisol; psychological stress; IL-6; TNF-α

**SADRŽAJ**

**1. UVOD** ..... 1

1.1. Alergijski kontaktni dermatitis ..... 1

1.1.1. Epidemiologija alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 1

1.1.2. Etiopatogeneza alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 2

1.1.3. Klinička slika alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 5

1.1.4. Dijagnostika alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 7

1.1.5. Liječenje alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 10

1.2. Atopija ..... 11

1.3. Proupalni citokini IL-6 I TNF-α ..... 13

1.3.1. Citokini IL-6 I TNF-α u alergijskom kontaktnom dermatitisu ..... 14

1.4. Kvaliteta života i intenzitet psihičkog stresa ..... 16

1.4.1. Utjecaj psihičkog stresa na endokrine i imunosne mehanizme ..... 17

1.4.2. Povezanost psihičkog stresa i alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 18

1.4.3. Metode evaluacije psihičkog stresa ..... 21

1.4.4. Nepovoljan utjecaj alergijskog kontaktnog dermatitisa na kvalitetu života oboljelih te metode evaluacije dermatološke kvalitete života ..... 23

**2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA** ..... 25

2.1. Svrha ..... 25

2.2. Hipoteze ..... 25

2.3. Ciljevi istraživanja ..... 25

**3. MATERIJALI I POSTUPCI** ..... 26

3.1. Ispitanici ..... 26

3.1.1. Kriteriji uključenja bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i prisutnom atopijskom bolesti ..... 26

3.1.2. Kriteriji uključenja bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka bez atopijske bolesti ..... 27

3.1.3. Kriteriji uključenja zdravih ispitanika ..... 27

3.1.4. Kriteriji isključenja za sve ispitanike ..... 27

3.2. Način izvođenja istraživanja ..... 28

3.3. Procjena težine i duljine trajanja alergijskog kontaktnog dermatitisa ..... 28

3.4. Upitnik anamnestičkih podataka ..... 29

3.5. Psihološki testovi ..... 29

3.6. Uzimanje uzorka sline i seruma za određivanje vrijednosti kortizola ..... 30

3.7. Uzimanje uzorka seruma za određivanje vrijednosti IL-6 i TNF-α ..... 31

3.8. Alergološka testiranja ..... 32

3.9. Statističke metode ..... 32

3.10. Etička pitanja ..... 33

**4. REZULTATI** ..... 34

4.1. Osnovni podaci o uzorku ..... 34

4.2. Usporedba između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika u razinama IL-6 i TNF-α u serumu, jutarnjeg kortizola u slini i intenziteta psihičkog stresa ..... 35

4.3. Ispitivanje povezanosti razina IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i razina jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na težinu kliničke slike i kvalitetu života bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka. ..... 38

4.4. Ispitivanje povezanost razine jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i kvalitete života bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka s duljinom trajanja bolesti ..... 40

4.5. Usporedba bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka s pratećom atopijskom bolesti i onih bolesnika bez prateće atopijske bolesti u razinama jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i dermatološke kvalitete života ..... 40

4.6. Određivanje korelacije u koncentraciji jutarnjeg kortizola iz sline u odnosu na jutarnji kortizol iz seruma radi procjene vjerodostojnosti kortizola u slini kao biomarkera psihičkog stresa. ..... 42

4.7. Statistička obrada podataka prema kategorizaciji ispitanika ..... 43

**5. RASPRAVA** ..... 50

5.1. Usporedba razina IL-6 i TNF-α u serumu između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika ..... 50

5.2. Usporedba razine jutarnjeg kortizola u slini između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika te povezanosti intenziteta psihičkog stresa i razina jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na težinu kliničke slike i duljinu trajanja bolesti bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka ..... 54

5.3. Intenzitet psihičkog stresa između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika te parametri koji utječu na kvalitetu života bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka ..... 57

5.4. Razlike u razinama jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i kvalitete života u bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka s pratećom atopijskom bolesti u odnosu na one bolesnike bez prateće atopijske bolesti ..... 60

5.5. Ograničenja i prednosti istraživanja ..... 63

**6. ZAKLJUČCI** ..... 66

**7. LITERATURA** ..... 68

**8. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA** ..... 81

**PRILOZI**

**POPIS SKRAĆENICA**

11β-HSD1- enzim 11β-hidroksisteroid dehidrogenaza tipa 1

ACTH- adrenokortikotropni hormon (*adrenocorticotropic hormone*)

AKD- alergijski kontaktni dermatitis šaka

BALB/c miš- albino, imunodeficijentni laboratorijski uzgojen soj kućnog miša

CBG- protein koji veže kortizol u serumu (*cortisol binding globulin*)

CRH- kortikotropin-oslobađajući hormon (*corticotropin-releasing hormone*)

CRH-R- receptor za kortikotropin-oslobađajući hormon (*corticotropin-releasing hormone receptors*)

DLQI- upitnik dermatološke kvalitete života (*Dermatology Life Quality Indeks*)

ECLIA- metoda elektrokemiluminiscenscije (e*lectrochemiluminescence immunoassay*)

ELISA- enzimsko vezani imunoapsorbirajući esej (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

HADS- Bolnička ljestvica anksioznosti i depresije (*Hospital Anxiety and Depression Scale*)

HEAS- *Hand Eczema Area and Severity* skala

HECSI- *Hand Eczema Severity Index*

HEES - *Hand Eczema Extent Score*

HEROS- *Hand Eczema Score for Occupational Screenings*

HHA os- hipotalamo-hipofizno-adrenalna os

ICAM- međustanična adhezijska molekula (*intercellular adhesion molecule*)

ICDRG- *International Contact Dermatitis Research Group*

IFN- interferon

IKD- iritativni kontaktni dermatitis

IL- interleukin

IQR-interkvartilni raspon

KBC SM- Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

Kon- konstanta

LC-MS- tekućinski kromatograf masene spektrometrije (*liquid chromatography–mass spectrometry)*

Maks- maksimalno

MCR- melanokortikotropni receptor (*melanocortin receptor*)

MHC- kompleks glavne histokompatibilnosti (*major histocompatibility complex*)

Min- minimalno

MSH- hormon stimulacije melanocita (*melanocyte-stimulating hormone*)

N- ukupni broj ispitanika

OHSI- *Osnabrück Hand Eczema Severity Indeks*

Parc- parcijalna

PNI- psihoneuroimunosni

POMC- proopiomelanokortin (*pro-opiomelanocortin*)

*Prick* test- kožni test ubodom

PS- psihički stres

PSS- perceptivna skala stresa (*Percived Stress Scale*)

RIA- radioimunoesej (*radioimmunoassay)*

SD- standardna devijacija

Semiparc- semiparcijalna

SZO- Svjetska zdravstvena organizacija

Tc- citotoksični T limfociti

Th- pomoćnički T limfociti

TLR- *toll-like* receptor

TNF- tumor nekrotizirajući faktor (*tumor necrosis factor*)

Treg- regulatorni T limfociti

UV- ultraljubičasto (*ultraviolet*)

# 1. UVOD

Kontaktni dermatitis može biti iritativni (IKD) (nespecifična reakcija kože na izravno kemijsko oštećenje) i alergijski (AKD) (odgođena reakcija preosjetljivosti na alergene, što uključuje specifične imunosne odgovore). AKD je, dakle, upalna bolest kože posredovana T limfocitima nastala uslijed kasne reakcije preosjetljivosti (tip IV prema Gellu i Coombsu) nakon kontakta kože s tvarima male molekularne mase (haptenima) (1). Može se reći da je AKD zapravo klinička manifestacija kontaktne alergije. Težina kliničke slike AKD-a šaka može uvelike utjecati na njeno trajanje i kvalitetu terapijskog odgovora te samim time i kvalitetu života bolesnika, zbog čega je prisutan povećan interes za otkrivanje novih etiopatogenetskih čimbenika koji utječu na samu bolest i njen tijek (1).

Posljednjih godina uočava se povećano zanimanje znanosti prema psihoneuroimunosnom (PNI) pristupu različitim bolestima pa tako i prema bolestima kože, što uključuje ispitivanje međuodnosa i utjecaja psihičkih, neuroendokrinoloških i imunosnih čimbenika na tijek, nastanak i ishod pojedinih bolesti. Zbog značajnog negativnog utjecaja kontaktnog dermatitisa na kvalitetu života bolesnika, povećana je potreba za istraživanjima koja će pobliže razjasniti različite čimbenike nastanka, pogoršanja i perzistiranja bolesti, koristeći PNI pristup. Pretraživanjem znanstvenih baza (*PubMed, Web of Science, Scopus*) pronalazi se tek nekoliko znanstveno-istraživačkih članaka s ovakvim pristupom upalnim bolestima kože, ali ne postoji nijedno istraživanje koje istovremeno analizira i promatra sve komponente PNI pristupa (psihičke, neuroendokrine, imunosne) u bolesnika s AKD-om (2–4).

## 1.1. Alergijski kontaktni dermatitis

### 1.1.1. Epidemiologija alergijskog kontaktnog dermatitisa

U općoj populaciji broj oboljelih od AKD-a iznosi 1 do 10%, dok AKD čini 5 do 15% svih upalnih bolesti kože (5). Osobe svih dobnih i rasnih skupina mogu biti zahvaćene AKD-om, a mogu se uočiti razlike u učestalosti među spolovima, koje se općenito temelje na obrascima izloženosti različitim haptenima. Alergija na nikal češće se javlja kod žena, vjerojatno zbog njihove veće izloženosti ovom haptenu u nakitu (6). Hapteni koji izazivaju reakcije preosjetljivosti u pojedinca razlikuju se među zemljopisnim regijama, s obzirom da se npr. prisutnost i koncentracije konzervansa i određenih haptena korištenih u proizvodima za osobnu njegu ili nakitu mogu razlikovati ovisno o državnim propisima. Osim toga, čak i na određenom području, neki hapteni mogu s vremenom povećati kliničku važnost, dok se drugima ona smanjuje zbog promjena obrazaca korištenja i/ili promjena regulative.

Što se tiče profesionalnih bolesti kože, AKD čini čak 20% njih (1). Pritom su zanimanja i profesije s većim rizikom za razvoj ove bolesti frizeri, zdravstveni djelatnici, djelatnosti u području čišćenja i održavanja, kemijski tehničari, zanimanja u području građevinskih radova, itd. (1,5).

### 1.1.2. Etiopatogeneza alergijskog kontaktnog dermatitisa

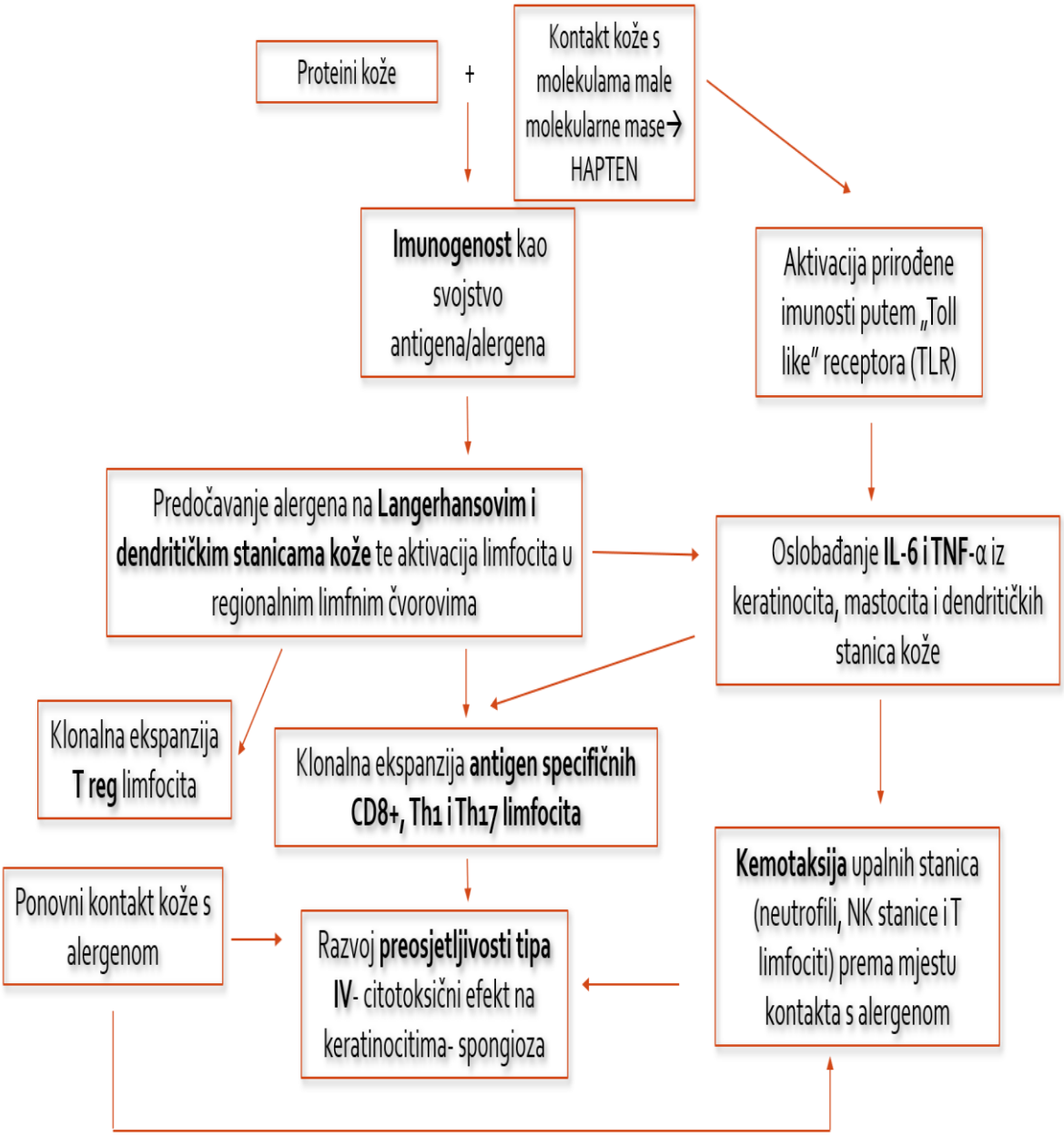
Patofiziološki razvoj AKD-a uključuje dvije faze (1,7). U prvoj fazi, odnosno fazi senzibilizacije, odgovorne tvari (hapteni), nakon prodiranja kroz rožnati sloj epidermisa, ciljaju endogene molekule veće molekularne mase u koži, te u kovalentnom (npr. nikal i kobalt) ili nekovalentnom spoju s njima postižu imunogenost i svojstvo antigena, tj. alergena (7). Proces senzibilizacije traje prosječno 10 do 14 dana. Svojim proupalnim svojstvima, hapteni također mogu stvarati upalnu iritativnu reakciju kože koja nije specifična za antigen/hapten (8). U daljnjem tekstu će se, radi jednostavnijeg praćenja sadržaja, u svim spominjanjima haptena koristiti pojam alergen. U navedenoj fazi senzibilizacije ključnu ulogu ima urođena imunost. Alergeni se internaliziraju putem *toll-like* receptora (TLR) te predočavaju putem molekula kompleksa glavne histokompatibilnosti I i II (*major histocompatibility complex*, MHC I i II) na Langerhansovim i dendritičkim stanicama kože, koje potom odlaze u regionalne limfne čvorove (s obzirom na mjesto kontakta alergena s kožom) gdje predočavaju alergene limfocitima (9). U regionalnom limfnom čvoru potom dolazi do razvoja specifičnih citotoksičnih CD8+T (Tc) i pomoćničkih CD4+ (Th) limfocita (7,9). U drugoj, efektorskoj, fazi, nakon ponovnog kontakta kože s alergenom, prethodno stvoreni specifični limfociti razvijaju upalnu reakciju preosjetljivosti tipa IV. Navedeni upalni procesi u koži nastaju citotoksičnim djelovanjem Tc limfocita na keratinocite na mjestu kontakta s alergenom te utjecajem brojnih proupalnih citokina Th1 limfocitnog odgovora (1,7). Pritom se Tc limfociti vežu s keratinocitima koji luče interferon-γ (IFN-γ) koji povratno stimulira ekspresiju Fas molekula na keratinocitima te to zauzvrat veže receptor FasL izražen na Tc limfocitima, što posljedično dovodi do apoptoze keratinocita (10). Ovdje je važno napomenuti kako keratinociti također internaliziraju alergene putem TLR te pritom postaju metom alergen-specifičnih Tc limfocita, U senzibilizirane se osobe klinička slika AKD-a pojavljuje u roku 1-4 dana nakon ponovnog izlaganja alergenu.

Novije studije objavile su dokaze da, u AKD-u, koža pokazuje različite vrste imunosnih reakcija i različite imunosne odgovore na pojedine alergene. Iako kliničke manifestacije ne ovise o tipu alergena, imunosne reakcije pokazuju izraženu polarizaciju ovisno o specifičnosti izloženom alergenu (npr. nikal stimulira prvenstveno Th1/Th17 i Th 22 imunosni odgovor) (11). Prema

eksperimentalnim modelima, u AKD-u se događa oslobađanje citokina, interleukina 1 i 6 (IL-1, IL-6) i tumor nekrotizirajućeg faktora alfa (*tumor necrosis factor alfa* (TNF-α)) koji su ključni za proupalno i kemotaktičko djelovanje na imunosne stanice. Navedeni citokini izlučuju se iz keratinocita i predočnih stanica kože u fazi senzibilizacije putem aktivacije TLR, te iz keratinocita i alergen-specifičnih Th i Tc limfocita u efektorskoj fazi. Djelovanjem ovih citokina predočne stanice se prvotno usmjeravaju prema regionalnom limfnom čvoru, a potom u drugoj fazi njihovo djelovanje usmjerava alergen-specifične limfocite i ostale imunosne stanice prema mjestu oštećenja, tj. mjestu kontakta kože s alergenom, što posljedično rezultira nastankom karakterističnih kliničkih promjena u AKD-u (7,12,13). Važno je naglasiti da iako alergeni mogu prodrijeti kroz intaktnu i neoštećenu kožu, ukoliko je epidermo-dermalna barijera održana, to može djelomično spriječiti razvoj senzibilizacije na određene alergene (5). Pojedine studije pokazale su postojanost uloge genetskih varijacija i mutacija (pretežno mutacije za filagrin) i poremećenost epidermo-dermalne barijere (npr. promjene u pH), što može stvoriti okruženje koje pogoduje senzibilizaciji (14,15). Potvrđeno je i da su, kod upalnih promjena kože kontaktnog dermatitisa, često promijenjeni proteini tijesnog spoja u slojevima kože (*tight junctions*) što pritom doprinosi oštećenju funkcije epidermo-dermalne barijere, proliferacije i diferencijacije keratinocita, te promicanju apoptoze keatinocita (16).

Osim keratinocita i predočnih stanica, i druge imunosne stanice igraju ulogu u obje faze AKD-a. Tako primjerice neutrofili i mastociti, pobuđeni lokalnom upalnom reakcijom, također sudjeluju u stvaranju i lučenju proinflamatornih citokina (primjerice IL-6 i TNF- α) (7). Mastociti u dodiru s alergenima mogu lučiti brojne citokine i histamin, utječući tako na endotel krvnih žila kože i regrutiranje većeg broja imunosnih stanica na mjesto kontakta s alergenima (1,7).

Predočavanje alergena limfocitima u regionalnom limfnom čvoru potiče i razvoj specifičnih regulatornih T limfocita (Treg) koji lučenjem supresorskih citokina smanjuju i zaustavljaju reakciju kontaktne preosjetljivosti (7). Njihova uloga je, zapravo, vraćanje imunosne ravnoteže i prekidanje pretjerane kontaktne reakcije preosjetljivosti na alergene. Etiopatogeneza AKD-a prikazana je u shematskom obliku na Slici 1.

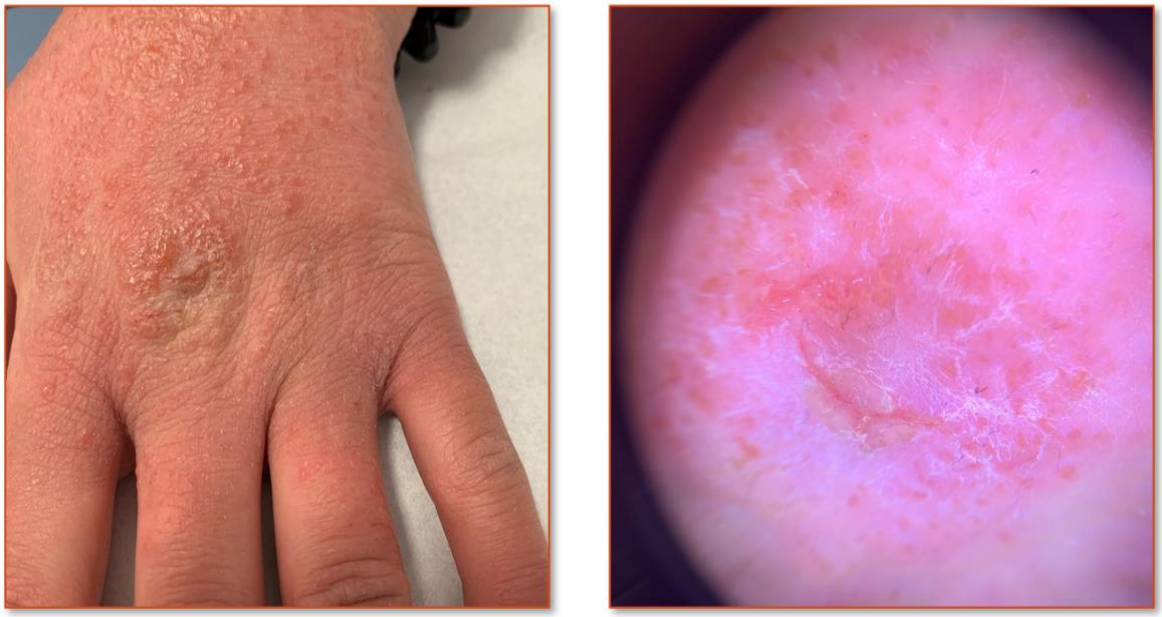



**Slika 1.** Shematski prikaz etiopatogeneze AKD-a, izrađeno prema Braun-Falco i sur., Nixon i sur., Silvestre i sur. (1,5,7).

Neke osobe specifičnu preosjetljivost na alergene razviju nakon više godina kronične kontaktne izloženosti niskog stupnja. Tako se, primjerice, kontaktna preosjetljivost na kromate u cementu može nakon dugo vremena razviti u osoba s kroničnim IKD-om, kao rezultat alkalne prirode cementa (1,5).

### 1.1.3. Klinička slika alergijskog kontaktnog dermatitisa

Klasična klinička slika AKD-a je pruritična ekcematozna erupcija kože, koja može biti akutna (prisutne papule, vezikule i/ili edem) ili kronična (kseroza kože, lihenifikacija ili ljuskavi plakovi, prisutnost ragada i fisura), s lokalizacijom koja odgovara području kontakta kože s alergenom. Akutni oblik može imati nekoliko faza, eritematoznu, vezikuloznu i madidirajuću. U bolesnika s AKD-om najčešće je zahvaćena koža šaka, što odgovara učestalom neposrednom kontaktnu s alergenima (1). Slika 2. prikazuje, klinički i dermatoskopski, akutnu fazu AKD-a šaka. Kada promjene kože AKD-a perzistiraju, radi se o kroničnom obliku koji može nastati i na koži promijenjenoj uslijed IKD-a. Glavne karakteristike kroničnog AKD-a su prisutnost lihenifikacije, fisura, ragada i subjektivno izražen osjećaj svrbeža (5). Tipično je klinička slika AKD-a, nakon nekog vremena, simetrične distribucije, iako primarno to ne mora uvijek biti slučaj. Kliničar također mora biti svjestan da se mogu susresti nepravilni ili difuzni raspored (distribucija) promjena kože, ovisno o prirodi i načinu izloženosti alergenu (npr. sredstva za pranje tijela ili šamponi koji se ispiru po tijelu). Ostale rjeđe kliničke slike AKD-a opisane su u Tablici 1.



**Slika 2.** Prikaz kliničke (na slici lijevo) i dermatoskopske (na slici desno) slike akutne faze AKD-a šaka (iz arhive Klinike za kožne i spolne bolesti, Kliničkog bolničkog centra Sestre Milosrdnice (KBC SM)). U kliničkoj slici može se vidjeti ekcematozna erupcija uz edem, papule i vezikule dok u dermatoskopskoj slici vidimo žućkasto-narančaste globule, te žućkaste ljuske i erozije na eritematoznoj podlozi.

**Tablica 1.** Rijetke kliničke manifestacije AKD-a; prema Nixon i sur. (1).

| **Oblici prema kliničkoj slici (etiološki čimbenici/alergeni)** | **Oblici prema raspodjeli (distribuciji) promjena kože i/ili patogenezi** |
|---|---|
| Pigmentirani<br>(npr. mirisi, baktericidi; često lice) | Fotoinduciran<br>(fotoalergijski kontaktni dermatitis) |
| Lihenoidni<br>(npr. razvijači filmova u boji, dentalni akrilati) | Kontaktni dermatitis gdje se alergen prenosi zrakom (*air-borne* kontaktni dermatitis) |
| „Kontaktni“ *Erythema multiforme*<br>(npr. p-fenilendiamin, otrovni bršljan) | Sustavni kontaktni dermatitis |
| Pigmentirana purpura<br>(npr. gumena ronilačka odijela) | Baboon-ov sindrom –<br>simetrični eritem glutealnog i ingvinalnog područja uz druga mjesta pregiba |
| Pseudolimfomatozni | AKD vjeđa |
| Granulomatozni (npr. cirkonij) | Kontaktni dermatitis genitalnog područja |
| Pustulozni (npr. mirisi) | |

Svrbež, koji je često prisutan u bolesnika s AKD-om, i socijalna stigmatizacija zbog vidljivih promjena kože imaju velik utjecaj na psihosocijalni status bolesnika i njihove obitelji. Također, AKD se može javljati istodobno s IKD-om, kontaktnom urtikarijom i raznim oblicima endogenih ekcema koji mogu otežati postavljanje dijagnoze (1). Osobe s AKD-om mogu imati perzistentni ili recidivirajući dermatitis, osobito ukoliko alergen nije relevantno identificiran ili ukoliko se relevantni alergen ne uspijeva u potpunosti izbjegavati. Što dulje osoba ima razvijenu kliničku sliku AKD-a, vjeruje se da će dulje trajati i provođenje terapijskog postupka, čak i nakon što se uspješno ukloni alergen (1).

Diferencijalna dijagnoza AKD-a uključuje IKD, kontaktnu urtikariju, bulozne dermatoze uzrokovane lijekovima, numularni dermatitis, perioralni dermatitis, fitofotodermatitis, *prurigo nodularis*, seboroični dermatitis, *tinea corporis*, svrab (promjene kože u interdigitalnim predjelima) (5). Glavne kliničke razlike između IKD-a i AKD-a su brži početak IKD-a te sklonost AKD-a ka proširenim i neoštro ograničenim promjenama kože. Nadalje, kod IKD-a nema imunosne reakcije; nema prethodnog izlaganja tvari (nema senzibilizacije), a većina pojedinaca izloženih iritansu (obično agresivna tvar) manifestira sličnu kliničku sliku.

### 1.1.4. Dijagnostika alergijskog kontaktnog dermatitisa

Budući da se IKD i AKD ne mogu uvijek klinički jasno razlikovati, potrebno je provođenje alergološkog epikutanog testiranja kako bi se mogao identificirati ili isključiti alergen kao etiološki čimbenik (1). Pritom epikutano testiranje predstavlja zlatni standard za dijagnosticiranje AKD-a, a pozitivan rezultat testa mora biti relevantan i u skladu s razvijenom kliničkom slikom. Ukoliko epikutano testiranje pokaže pozitivnu reakciju na određeni alergen, ali u datom trenutku nije razvijena klinička slika ili ne postoji anamnestički podatak o izloženosti otkrivenom alergenu, postavlja se dijagnoza kontaktne preosjetljivosti. Iako je dijagnoza AKD-a prvenstveno klinička uz dijagnostičko epikutano testiranje, patohistološka dijagnostika ponekad može biti od pomoći (npr. radi isključenja *mycosis fungoides* u diferencijalnoj dijagnostici). Patohistološka dijagnostika AKD-a najkorisnija je kod akutnih lezija (kao prototip spongiotičnog dermatitisa), budući da subakutne ili kronične promjene kože često patohistološki imaju nespecifična obilježja. Međutim, čak i kada je u patohistološkoj slici prisutan spongiotični dermatitis, uvijek je potrebna kliničko-patološka korelacija uz epikutano testiranje, obzirom da AKD nije jedini uzrok ovog oblika reakcije.

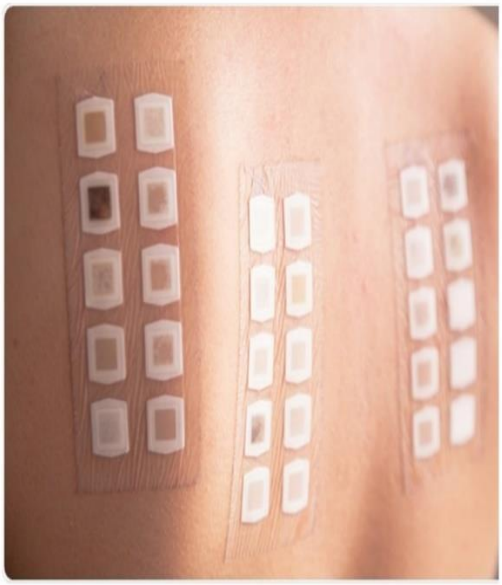
Od preostalih dijagnostičkih testova, u bolesnika sa sumnjom na AKD, koriste se test ponovljene otvorene aplikacije (za testiranje preosjetljivosti na kozmetičke pripravake i lokalne lijekove), poluotvoreni test (za testiranje preosjetljivosti na proizvode koje donosi bolesnik sam, radi diferencijacije iritativnog učinka), *photopatch* test (za dijagnostiku fotokontaktnih alergijskih bolesti).

#### 1.1.4.1. Epikutano testiranje

Epikutano alergološko testiranje služi za dokazivanje prisutnosti reakcije preosjetljivosti tipa IV na određeni alergen. Postoji niz osnovnih serija alergena koje se koriste za epikutano testiranje, a koje su razvijene kako bi uključile najvažnije alergene na različitim geografskim predjelima. Pretežito sadržavaju metale (npr. nikal, kromat), mirise, konzervanse (npr. metilizotiazolinon), formaldehid (npr. kvaternij-15), boju za kosu (p-fenilendiamin), lokalne antibiotike (npr. neomicin). Pritom su nikal sulfat i kobalt klorid među najčešćim alergenima koji uzrokuju AKD (1).

Prije primjene epikutanog testa, kliničar bi trebao detaljno ispitati anamnestičke podatke o izloženosti bolesnika različitim alergenima, i kod kuće i na radnom mjestu, te pokušati razumjeti mehaniku radnog okruženja. Osim toga, korisno je popisati sve proizvode za osobnu njegu i istražiti hobije.

Za izvođenje dijagnostičkog testa potrebne su dvije komponente; alergeni u posebnom formatu i flasteri na kojima su oni unaprijed naneseni (kao jedinica za testiranje koji dovode alergen u kontakt s kožom ispitanika). Najčešće mjesto za aplikaciju flastera je gornji dio leđa, dok su alternativna mjesta za testiranje lateralni dijelovi nadlaktica ili bedara. Važno je da bolesnik na mjestu aplikacije flastera nema promjene na koži te da nije tjedan dana prethodno primjenjivao lokalne kortikosteroide na mjesta aplikacije flastera (17). Također je potrebno izbjegavati sustavnu primjenu kortikosteroida 2 tjedna prije testiranja (18). Tijekom epikutanog testiranja antihistaminici se mogu primjenjivati jer neće utjecati na ishod testa obzirom da se radi o reakciji preosjetljivosti tipa IV. Bolesnik nakon aplikacije flastera iste ne uklanja do idućeg posjeta ambulanti (nakon 48 sati) te leđa drži suhima, izbjegava prekomjerno znojenje i podizanje teških tereta kako se flasteri ne bi odlijepili. Epikuatno testiranja potom se prvi puta očitava nakon 48 sati, prilikom uklanjanja flastera te naknadno nakon 72 sata i 7 dana od aplikacije flastera (obzirom da određeni alergeni mogu pokazati odgođene reakcije). Na Slici 3. prikazan je međunarodni sustav očitavanja rezultata epikutanog testiranja prema *International Contact Dermatitis Research Group* (ICDRG) (19).






**IR** – iritativna reakcija (diskretan eritem bez infiltracije)
**+++** – ekstremno pozitivna reakcija (prisutne vezikule i bule)
**++** – snažno pozitivna reakcija (eritem, infiltracija, papule)
**+** – slabo pozitivna reakcija (eritem, infiltracija)

**Slika 3**. Rezultati epikutanog testiranja- međunarodni sustav ocjenjivanja prema ICDRG (19) i prema Spiewak i sur. (20).

Postoji nekoliko standardiziranih serija alergena za epikutano testiranje. Najčešće korištena serija alergena u Klinici za kožne i spolne bolesti, Kliničkog bolničkog centra Sestre Milosrdnice (KBC SM), sastoji se od 28 alergena (Tablica 2.) i jedne kontrole (vazelin). Uz testiranje na navedenu seriju alergena, može se učiniti dodatno testiranje na tvari koje pacijenti sami donose dermatovenerologu, a za koje je potrebno prije aplikacije provjeriti točan kemijski sastav proizvoda kako bi se izbjegle iritacije poput opeklina ili ulceracija.

**Tablica 2.** Serija alergena koji se koriste za epikutano testiranje u Klinici za kožne i spolne bolesti, KBC SM, i njihove koncentracije u vehikulima (svi alergeni su pripremljeni u vazelinu osim bijelog živinog acetata i formaldehida čiji vehikulum je voda).

| **ALERGEN** | **KONC.** | **ALERGEN** | **KONC.** |
|---|---|---|---|
| Kalijev dikromat | 0,5% | Kvaternij-15 | 1,0% |
| Neomicin sulfat | 20,0% | Katran drvenog ugljena | 12.0% |
| Smjesa za gumu (thiuram.sp) | 1,0% | Girodal | 10% |
| Ursol (p-fenilenediamin) | 0.5% | Timerosal | 0,1% |
| Formaldehid (u vodi) | 1,0% | Deterdžent za pranje rublja | 2,0% |
| Kolofonij | 20,0% | Smjesa dodataka gumi (karbamati) | 3,0% |
| Peruvijanski balzam | 25,0% | Kobalt klorid | 1,0% |
| Lanolin alkohol | 30,0% | Deterdžent za čišćenje | 2,0% |
| Smjesa za gumu (merkapto spojevi) | 2,0% | Fenil-živine soli | 0,01% |
| Epoksidna smola | 1,0% | Sredstvo za suđe „Arf“ | |
| Bijeli živin acetat (u vodi) | 10% | Sredstvo za čišćenje „Bref“ | |
| Smjesa mirisa 1 | 8,0% | Antioksidans za gumu (n-izopropil-N-fenil-4-fenilendiamin (IPPD)) | 0,1% |
| Nikal sulfat | 5 % | Smjesa parabena | 15,0% |
| Sumporni precipitat | 10% | Vazelin (kontrola) | |
| Benzokain (anestezin) | 5.0% | | |

#### 1.1.4.2. Procjena težine alergijskog kontaktnog dermatitisa

Iako se procjena težine kliničke slike AKD-a rutinski ne izvodi, može se učiniti pri kliničkom pregledu, pomoću validiranih mjernih skala koje koriste educirani dermatovenerolozi, ponajprije u istraživačke svrhe. Trenutno je u uporabi nekoliko mjernih skala: *Hand Eczema Severity Index* (HECSI), *Osnabrück Hand Eczema Severity Indeks* (OHSI), *Hand Eczema score for occupational screenings* (HEROS), *Hand Eczema Area and Severity score* (HEAS) i *Hand Eczema Extent Score* (HEES). Sve navedene mjerne skale dokazano su pouzdan alat za procjenu težine kliničke slike AKD-a šaka (21). Za razliku od ostalih mjernih skala HEES jedina pokazuje pozitivnu korelaciju s rezultatima upitnika dermatološke kvalitete života, *Dermatology Life Quality Index* (DLQI), te ima veću objektivnost od ostalih (21).

### 1.1.5. Liječenje alergijskog kontaktnog dermatitisa

Najvažniji dio liječenja AKD-a je izbjegavanje izloženosti alergenu. Nakon što se dokaže relevantna pozitivna reakcija na određeni alergen, bolesniku treba dati pisanu informaciju koja sadrži podatke o nazivu alergena, moguće sinonime, sredstva i tvari u kojima se alergen nalazi, te, najvažnije, kako izbjeći izloženost. Prilikom pokušaja identificiranja alergena u bolesnikovu okruženju, potrebno je uzeti u obzir i alergene prenesene iz drugih izvora (npr. sa supružnika, poput parfema) (1). Da bi se postigla potpuna regresija promjena kože, nekad može proći i do 6 tjedana ili više, čak i kada se izbjegavaju alergeni, pa je tada povremeno potrebna i dodatna lokalna terapija, održavanje epidermalne barijere emolijentnim kremama i izbjegavanje dodatnih/drugih iritansa kože (1). Također važno je odrediti i relevantnost pozitivnog epikutanog testa na određeni alergen, obzirom da bolesnik može biti senzibiliziran na određeni alergen, ali navedeno ne mora ujedno i biti pravi uzrok za nastalu bolest kože.

U lokalnom liječenju AKD-a koriste se lokalni kortikosteroidi i inhibitori kalcineurina. Lokalni kortikosteroidni pripravci djeluju protuupalno, vazokonstriktivno, antiproliferativno i imunosupresivno. Nadalje, lokalni inhibitori kalcineurina, tacrolimus (0,03% i 0,1%) i pimecrolimus (1%), imaju protuupalni i imunosupresivni učinak inhibiranjem proizvodnje i sekrecije proupalnih citokina iz T limfocita i izazivaju manje nuspojava od kortikosteroidnih pripravaka. Također je vrlo važno redovito njegovati kožu šaka emolijentnim kremama kako bi se što kvalitetnije održala epidermo-dermalna barijera i njen kontinuitet.

U sustavnom liječenju AKD-a za teške oblike bolesti mogu se pokušati koristiti antihistaminici u slučaju izraženog subjektivnog osjećaja svrbeža, fototerapija (UVA, UVA/UVB, UVB),

sustavni retinoidi, sustavna kortikosteroidna i imunosupresivna terapija (ciklosporin A, azatioprin, metotreksat) (1).

### 1.2. Atopija

Atopija se definira kao genetska sklonost razvoju alergijskih bolesti kao što su rinokonjunktivitis, ekstrinzični atopijski dermatitis, imunosno posredovana urtikarija, imunosno posredovan angioedem, akutna alergija na lateks, alergijske bolesti pluća (npr. alergijska astma, IgE-om posredovane alergije i bronhopulmonalne bolesti) i alergijske reakcije na otrovne ubode kukaca (22). Atopija je obično povezana s pojačanim imunosnim odgovorima na uobičajene alergene, osobito na inhalacijske i nutritivne alergene. Zapravo se radi o reakciji preosjetljivosti tipa I posredovanoj IgE protutijelima stvorenim neodgovarajućom i pretjeranom imunosnom reakcijom organizma na izloženost alergenu (22). Atopija je klinički definirana kao postojanje trajne senzibilizacije na barem jedan alergen dokazan kožnim ubodnim testom (*prick* test) ili mjerenjem koncentracije alergen-specifičnog IgE protutijela iz seruma, a ne samo dokazom povišene koncentracije ukupnih IgE protutijela u krvi bez kliničkih obilježja razvijene bolesti (23,24). Reakcije preosjetljivosti tipa I u osnovi su svih atopijskih poremećaja i mnogih alergijskih poremećaja (npr. anafilaksija, neki oblici angioedema, urtikarija, alergija na lateks i pojedine alergije na hranu). Izrazi atopija i alergija se razlikuju, pri čemu je alergija svaki pretjerani imunosni odgovor na strani antigen bez obzira na mehanizam (ne nužno samo tip I reakcija preosjetljivosti kao što se odnosi na atopiju) (22,24). S obzirom na navedeno, sve se atopijske bolesti smatraju alergijskim, ali mnoge alergijske nisu nužno atopijske. Atopijske bolesti većinom se pojavljuju određenim slijedom pa se tako alergije na hranu i atopijski dermatitis obično pojavljuju u prvim godinama života, nakon kojih slijedi pojava alergijske astme te potom alergijskog rinokonjunktivitisa u kasnijoj dobi. Ovaj vremenski slijed pojavljivanja atopijskih bolesti naziva se „atopijski marš“ (22).

Alergeni induciraju reakcije preosjetljovosti tipa I ili tipa IV. Nakon što se alergen veže na prethodno senzibilizirane mastocite i bazofile, iz njihovih intracelularnih granula oslobađa se histamin, kao primarni posrednik kliničke atopije (22,24). Mastociti su široko rasprostranjeni, ali najviše u koži, plućima i gastrointestinalnoj sluznici. Učinci histamina uključuju lokalnu vazodilataciju (primjerice uzrokujući eritem na koži), povećanu propusnost kapilara i edem, vazodilataciju okolnih arteriola, stimulaciju osjetnih živaca (primjerice uzrokujući svrbež kože), kontrakciju glatkih mišića u dišnim putovima (bronhokonstrikcija), povećavanje motiliteta gastrointestinalnog sustava, povećano lučenje nosnih i bronhijalnih žlijezda.

Važno je naglasiti da je za postavljanje dijagnoze atopije potrebna prisutnost specifičnog IgE protutijela na određeni alergen uz klinički razvijenu bolest. Razine ukupnog IgE u serumu povišene su kod brojnih atopijskih poremećaja, ali su od male pomoći u dijagnozi jer mogu biti povišene i kod parazitarnih infekcija, infektivne mononukleoze, nekih autoimunih poremećaja, reakcija na lijekove, imunodeficijencija i kod nekih oblika multiplog mijeloma (22). Također prisutnost specifičnog IgE protutijela u serumu ne znači nužno postojanje i razvijenost atopijske bolesti u kliničkom smislu.

*Prick* test izvodi se primjenom standardizirane koncentracije alergena koji se lancetom izravno unose u kožu čime se dokazuje prisutnost specifičnog IgE protutijela na određeni alergen (25). Najčešće korišteni alergeni su pelud (drveće, trava, korov), plijesni, izmet grinja iz kućne prašine, životinjska perut i serumi, otrov insekata, hrana, beta-laktamski antibiotici, itd. Izbor antigena za testiranje temelji se na anamnezi bolesnika i geografskoj prevalenciji alergena.

Gledajući međusobnu povezanost AKD-a i atopijskog dermatitisa, dosadašnja istraživanja pokazuju povećanu prevalenciju AKD-a u bolesnika s atopijskim dermatitisom (26,27). Uz to je uočena povezanost AKD-a i s drugim atopijskim bolestima poput astme i/ili alergijskog rinokonjunktivitisa (28–31).

Sami mehanizam povezanosti atopijskog dermatitisa i AKD-a nije potpuno objašnjen, a pojedini literaturni podaci se razlikuju (32–34). Prema zadnjim teorijama, narušena epidermo-dermalna barijera u bolesnika s atopijskim dermatitisom trebala bi povećati prodor i podložnost alergenima kroz rožnati sloj epidermisa i time potencijalno povećati rizik za nastanak AKD-a, što je i uočeno u dosadašnjim istraživanjima (34). Prema autorima Kohli i sur., bolesnici s atopijskim dermatitisom predisponirani su (tj. imaju veći rizik) za razvoj kontaktne preosjetljivost na slabije/blaže alergene (za razliku primjerice od onih bez atopijskog dermatitisa), dok jaki/snažni alergeni mogu brže i efikasnije pokrenuti urođeni imunosni odgovor u fazi senzibilizacije, i to bez prisutnosti oštećenja epidermo-dermalne barijere (35).

Ipak, s druge strane, istraživanja pokazuju da prevladavajući Th2 citokinski imunosni odgovor u bolesnika s atopijskim dermatitisom može umanjiti rizik od kontaktne osjetljivosti, budući da u kontaktnoj preosjetljivosti prevladava Tc i Th1 odgovor (33). Prema dosadašnjim studijama prediktivni čimbenici rizika za razvoj kontaktne reakcije preosjetljivosti uključuju i genetske čimbenike koji se dominantno odnose na Tc i Th1 citokinski imunosni odgovor (polimorfizmi TNF 238G>A i TNF-α 308G>A, IL-1 511C>G i IL-6 174G>A i nekoliko polimorfizama unutar promjenjivog broja tandema ponavljanja introna 2 gena antagonista IL-1 receptora) (36,37).

Nastajanje alergijske reakcije tipa I pokrenuto je unosom i predočavanjem alergena Th limfocitima putem MHC II molekula predočnih stanica. Aktivirani Th limfociti potom induciraju B limfocite na proizvodnju protutijela specifičnih za alergene, uglavnom klase IgE. Prema znanstvenim spoznajama, regulacija IgE imunosnog puta, u osnovi, temeljena je na recipročnoj aktivnosti IL-4 i IFN-γ. Nakon izlaganja alergenu, Thl limfociti, proizvode IL-2, IFN-γ i TNF-α, dok Th2 luče IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10 (3). Različiti profili citokina povezani su s vrlo različitim funkcijama gdje Th2 klonovi dominantno izražavaju pomoćnu funkciju B limfocitima za lučenje protutijela, posebice IgE klase. Pod nekim okolnostima, Thl limfociti također mogu pružiti pomoć B limfocitima, ali jedna od njihovih glavnih funkcija je izazivanje reakcija preosjetljivosti tipa IV. U brojnim imunosnim odgovorima postoji recipročna interakcija između reakcija preosjetljivosti tipa IV i humoralnih odgovora. Prema navedenom, pokazano je da IFN-γ (kojeg proizvodi Thl limfocit) inhibira rast Th2 limfocita, dok IL-10 (kojeg proizvodi Th2 limfocit) inhibira sintezu citokina u Thl limfocitima (38). IFN-γ potiče diferencijaciju prekursora u Thl limfocite, dok IL-4 ima recipročnu aktivnost izazivajući diferencijaciju u Th2 limfocitni odgovor (3,38).

### 1.3. Proupalni citokini IL-6 I TNF-α

Proupalni citokini IL-6 i TNF-α važni su posrednici u odgovoru na akutnu fazu bolesti ili infekcije, a također su i endogeni pirogeni, mogu izazvati kaheksiju, inhibirati tumorogenezu i replikaciju virusa. Poremećena regulacija proizvodnje IL-6 i TNF-a povezana je s različitim bolestima, uključujući Alzheimerovu bolest, tumorogenezu, depresiju, kao i s brojnim bolestima kože (39,40).

Citokin IL-6 jedan je od glavnih proupalnih citokina odgovornih za aktivaciju imunosnog odgovora. Njegova pleiotropna aktivnost uključuje sintezu proteina akutne faze u jetri i diferencijaciju limfocita. Također može utjecati na hormonsku ravnotežu i neke endokrine poremećaje (41,42). IL-6 djeluje na širok raspon stanica, uključujući one hematopoetskog porijekla. Primjerice, promovira sazrijevanje megakariocita i diferencijaciju mijeloidnih stanica. Uz to, IL-6 stimulira izlučivanje protutijela od strane B limfocita i ima mitogene učinke na B limfocite i plazmocitome (43). Nadalje, IL-6 inducira diferencijaciju naivnog CD4+ limfocita u Th17 stanice, koje su važne za obranu od patogena na sluznicama. Također, sinergijske interakcije IL-6 s IL-7 i IL-15 induciraju diferencijaciju i citotoksični kapacitet CD8+ T limfocita, a koji je važan u patogenezi AKD-a (44). IL-6 je važan citokin za kožu kojeg proizvode i izlučuju keratinociti, fibroblasti, te vaskularne endotelne stanice kao i leukociti

infiltrirani u kožu. Osobito je značajno da IL-6 može stimulirati proliferaciju ljudskih keratinocita. Navedeno je važno kod, primjerice, psorijaze (kod koje je pokazana povišena ekspresija IL-6) te kod infekcije humanim herpesvirusom 8 (koji proizvodi virusni homolog IL-6, a koji može biti uključeni u patogenezu Kaposijevog sarkoma) (43).

Nadalje, u mnogim bolestima kože iznimno je značajan i proupalni citokin TNF-α. Navedeni citokin je prototip za obitelj signalnih molekula koji posreduju svoje biološke učinke putem obitelji srodnih receptorskih molekula. TNF-α je u početku bio prepoznat na temelju svoje sposobnosti da posreduje dva zanimljiva biološka učinka: hemoragijsku nekrozu malignih tumora i kaheksiju povezanu s upalom (43). U svojem slobodnom obliku u plazmi TNF-α se nalazi kao homotrimer. Izlučuju ga uglavnom makrofazi i limfociti kao odgovor na oštećenje stanica uzrokovano infekcijom ili malignom transformacijom, iako ga mogu lučiti i mnoge druge vrste stanica i tkiva, npr. keratinociti (7,45). TNF-α je, slično kao IL-6, proupalni citokin, karakteriziran širokim spektrom funkcija. Proupalni učinci uključuju povećanje ekspresije adhezijskih molekula i indukciju lučenja sekundarnih citokina i kemokina (43). Može izazvati i citotoksične učinke aktivacijom kaspaza, što rezultira apoptozom stanica (43). TNF-α je važan posrednik brojnih upalnih bolesti kože (primjerice psorijaza), a njegova ekspresija se inducira tijekom gotovo svake upalne reakcije u koži. Ljudski keratinociti i keratinocitne stanične linije proizvode znatne količine TNF-a nakon stimulacije UV svjetlom ili nakon izloženosti određenom stresoru. Potaknuta upala kože iritansima i kontaktnim senzibilizatorima također je posredovana jakom indukcijom proizvodnje TNF-α u keratinocitima (43).

Povišene razine IL-6 i TNF-α u serumu uočene su i u bolesnika s drugim bolestima kože kao što su kronična spontana urtikarija, *lupus erythematosus*, karcinomi kože, melanom, vitiligo, bulozni pemfigoid (46–52).

### 1.3.1. Citokini IL-6 I TNF-α u alergijskom kontaktnom dermatitisu

Istraživanja na miševima i bolesnicima s AKD-om pokazala su povećane vrijednosti IL-6, IL-1 i TNF-α lokalno u leziji kože ili u kulturi keratinocita (53–59). Kao što je već navedeno, akutno oštećenje kože nastalo prilikom izlaganja alergenima potiče keratinocite i predočne stanice na oslobađanje navedenih citokina koji su ključni za sazrijevanje i migraciju alergen-specifičnih Tc u regionalne limfne čvorove. U ponovnom kontaktu s alergenom, ti citokini ključni su za proupalno i kemotaktičko djelovanje na upalne stanice usmjeravajući ih prema mjestu oštećenja tj. kontakta kože s alergenom (7,12). Uz citotoksično djelovanje Tc na keratinocite, IL-6 i TNF-α također utječu na upalni proces u koži izravnim djelovanjem na

keratinocite (citotoksično djelovanje TNF-α), antiproliferacijskim djelovanjem na Treg limfocite (npr. IL-6), inducirajući diferencijaciju CD8+ limfocita u alergen-specifične Tc limfocite (TNF-α, IL-6) (7). Također je važno napomenuti kako je citokin TNF-α dio Th1 imunosnog odgovora, dok IL-6 potiče diferencijaciju Th2 i istovremeno inhibira Th1 polarizaciju (60,61).

Prema eksperimentima na miševima, intradermalna injekcija TNF-α inducira migraciju dendritičnih stanica u drenirajuće limfne čvorove, dok primjena anti-TNF-α u miševa osjetljivih na trinitroklorobenzen sprječava odgovor kože na primjenu ovog alergena (62,63). U eksperimentima na miševima s nedostatkom TNF receptora također se pokazalo da signalizacija putem navedenog receptora utječe na apsorpciju antigena od strane dendritičkih stanica te njihovu migraciju u limfne čvorove (62–65). *In vitro* istraživanja pokazala su da, osim uključivanja u fazu senzibilizacije, TNF-α oslobođen tijekom efektorske faze povećava ekspresiju adhezijskih molekula i citokina te tako potiče migraciju cirkulirajućih alergen-specifičnih Tc limfocita, što može rezultirati podržavanjem kronične upale (65).

S druge strane, postoji jako mali broj istraživanja koji proučava razine citokina u serumu bolesnika s AKD-om šaka. Na taj način pokušava se procijeniti radi li se u bolesnika s AKD-om isključivo o lokaliziranoj upali u koži ili ipak u pojedinim oblicima ili fazama može doći i do sustavnog upalnog odgovora. Tako su autori Jia Q i sur. uspoređivali razine IL-1β, IL-6, IL-8 i TNF-α u serumu u bolesnika s AKD-om na trikloretilen u odnosu na radnike koji su jednokratno eksponirani trikloretilenu te u neeksponiranih ispitanika. Rezultati su pokazali više razine IL-1β, IL-6, IL-8 i TNF-α u serumu bolesnika s AKD-om u odnosu na radnike jednokratno izložene trikloretilenu i neeksponiranih zdravih ispitanika (66). Slične rezultate pokazalo je i istraživanje Akhtar N i sur. u kojem su u 50 bolesnika s *airborne* AKD-om uočene više razine IL-6, TNF-α, IL-8, IL-17, a snižene vrijednosti IL-4 i IL-10 u serumu u odnosu na kontrolnu zdravu skupinu (67). Istraživanje provedeno na BALB/c miševima s AKD-om (izazvanim izlaganjem oksazolonu), autora Kimber I i sur., također je pokazalo više razine IL-6 u serumu nakon izlaganja alergenu u odnosu na zdrave miševe (68).

Pregled istraživanja koja su mjerila razinu citokina u serumu bolesnika s AKD-om nalazi se u Tablici 3.

**Tablica 3.** Pregled istraživanja razina citokina u serumu bolesnika s AKD-om

| **Autor; godina** | **Ispitivani citokini** | **Ispitanici** | **Rezultati** |
|---|---|---|---|
| **Jia Q i sur., 2012.** | IL -1β, IL-6, IL-8 i TNF-α u serumu | - 28 bolesnika s AKD-om na trikloretilen<br>- 22 radnika jednokratno eksponirani trikloretilenom<br>- 22 neeksponirana ispitanika | - više razine IL-1β, IL-, IL-8 i TNF-α u bolesnika u odnosu na jednokratno eksponirane i zdrave ispitanike |
| **Akhtar N i sur., 2010.** | IL-6, TNF-α, IL-8, IL-17, IL-4, Il-10 u serumu | - 50 bolesnika s *airborne* AKD-om na *Parthenium hysterophorus*<br>- 50 osoba zdrave kontrolne skupine | - više razine IL-6, TNF-α, IL-8, IL-17 u serumu bolesnika<br>- snižene vrijednosti IL-4 i IL-10 |
| **Kimber I i sur., 1990.** | IL-6 u serumu | - BALB/c miševi s AKD-om (izazvanim izlaganjem oksazolonu) | - više razine IL-6 u serumu nakon izlaganja alergenu |

### 1.4. Kvaliteta života i intenzitet psihičkog stresa

Psihički stres (PS), kao komponenta PNI pristupa, je okolnost u kojoj pojedinac percipira nesklad između zahtjeva situacije i resursa svojih bioloških, psihičkih i socijalnih sustava. Po svom karakteru, PS može biti akutan ili kroničan, te onaj koji se može izbjeći i onaj neizbježan. Različiti fizički, psihički i društveni vanjski čimbenici (stresori) neprestano ometaju psihičku i fizičku homeostazu (dinamičku ravnotežu fizioloških procesa), odnosno uzrokuju alostazu, koja se zatim obnavlja adaptivnim mehanizmima. Fizički stres i PS može uzrokovati i pozitivne (prilagodba) i negativne reakcije (neprilagođenost i bolest). Učinak PS-a na pojedinu osobu prvenstveno ovisi o njezinoj percepciji proživljenog PS-a i načinu na koji ga procjenjuje i njemu odolijeva (69).

Fiziološke odgovore na stres regulira hipotalamo-hipofizno-adrenalna os (HHA os) na čije djelovanje značajno utječu emocije. Kao odgovor na percepciju stresa, hipotalamus otpušta kortikotropin-oslobađajući hormon (*corticotropin-releasing hormone* (CRH)) koji potom stimulira hipofizu na otpuštanje adrenokortikotropnog hormona (*adrenocorticotropic hormone*

(ACTH)). Tijekom stresa stvoreni ACTH potiče koru nadbubrežne žlijezde na pojačano izlučivanje glukokortikoida, među kojima je, za odgovor na PS, najvažniji kortizol. Kortizol može izazvati štetne posljedice za imunosno funkcioniranje, što ovisi o duljini i intenzitetu trajanja stresa (70). Aktivacija HHA osi, s druge strane, rezultira i izlučivanjem mnogih hormona i neuronskih signala, pa na taj način pruža i pozitivne učinke koji pokušavaju „spasiti" organizam od prijetećih situacija/stresora (71).

Iako akutni odgovor HHA osi može biti koristan nakon izloženosti stresu, njegova kronična aktivacija ponavljajućim traumatskim epizodama može dovesti do deregulacije HHA osi i uzrokovati patološka stanja (71). Kod kroničnog PS-a, odgovor organizma na sljedeći susret s istim ili novim stresorom (senzibilizacija) može biti pojačan ili ne, ovisno o adaptivnim sposobnostima organizma. Ukoliko prethodno navedene adaptivne reakcije ne uspijevaju održati (ili brzo ponovno uspostaviti) ravnotežu, pri sljedećem izlaganju stresoru, granice ravnoteže (uz potrošnju dodatne energije) imaju novi širi raspon (71).

### 1.4.1. Utjecaj psihičkog stresa na endokrine i imunosne mehanizme

Dosadašnje spoznaje nesumnjivo potvrđuju da je izloženost stresnim događajima snažno povezana s radom imunosnog sustava. Naime, istraživanja pokazuju postojanje poremećene regulacije HHA osi, pri kroničnoj izloženosti PS-u, koja je povezana s psihopatologijom i manifestira se smanjenom fluktuacijom proizvodnje kortizola (38,72,73). Pritom kronično povišene vrijednosti kortizola pomiču imunosnu ravnotežu prema intenziviranju Th2 i Tc odgovora (38,72,73). Takvi rezultati o razinama kortizola zapravo pokazuju da kronični PS povećava ukupne dnevne vrijednosti kortizola, ali se zbog poremećaja ravnoteže HHA osi gubi fiziološki cirkadijani ritam i fluktuacija koncentracije (tj. povećanje koncentracije na akutni PS). Navedeno može značajno utjecati na kvalitetu života, pogoršati kliničku sliku i terapijski odgovor bolesnika. Pretpostavlja se da kronični PS može najprije dovesti do hiperaktivne funkcije HHA osi koja naknadno, ukoliko stresor perzistira, a pojedinac je iscrpio adaptivne sposobnosti, smanjuje svoju aktivnost.

Nadalje, na ravnotežu i aktivnost HHA osi značajno utječu i proupalni citokini IL-6 i TNF-α koji imaju ulogu u imunosnoj aktivaciji HHA osi i započinjanju i održavanju upalnih reakcija (66,68). Istraživanja pokazuju da akutni PS zbog aktivacije HHA osi i povišenih vrijednosti kortizola može sniziti vrijednosti IL-6 i TNF-α, dok, s druge strane, produljeni kronični PS uzrokuje poremećaj ravnoteže HHA osi te izaziva kortizolnu rezistenciju uz paradoksalno povišene razine IL-6 i TNF-α (74). Također, prema istraživanjima, povišene razine TNF-α i IL-

6 povezane su s različitim aspektima depresije poput bihevioralnih simptoma (pogoršavaju i šire neuroupalni proces, oštećujući moždane funkcije, itd.) (75). U bolesnika s velikom depresivnom epizodom, studije su potvrdile pozitivnu korelaciju težine simptoma depresije, koncentracije IL-6 i kortizola (76).

### 1.4.2. Povezanost psihičkog stresa i alergijskog kontaktnog dermatitisa

Utjecaj PS-a na zdravlje, razvoj i napredovanje bolesti može biti iznimno značajan. Stoga se čini da i koža (kao najveći organ) reagira na PS, budući da je zabilježeno da su mnoge bolesti kože usko povezane s izloženošću PS-u i psihičkim statusom bolesnika. Koža aktivno reagira na različite stresore, poput mehaničkih, kemijskih i fizičkih stresora, ali i psihičkih stresora. Koža je periferni neuroendokrini organ čiju lokalnu homeostazu reguliraju hormoni, neurotransmiteri, neuropeptidi, citokini izlučeni iz brojnih stanica kože (keratinociti, dermalni fibroblasti) (3). Mnoge imunosne stanice u koži imaju aktivnu ulogu, uključujući proupalne i protuupalne učinke. U koži postoje i brojni receptori za neurotransmitere i hormone (npr. za androgene, estrogene, kortizol, CRH) čije aktivnosti kontroliraju i modificiraju njen odgovor na psihičke i okolišne stresore (3). Cijeli proces veoma je složen i uključuje mnoge interakcije među brojnim PNI čimbenicima. Važno je napomenuti da, u zdravoj koži, keratinociti ne izražavaju MHC-II ili ICAM-1 molekule, ali ih mogu izražavati nakon patoloških podražaja ili stresora ili nakon izlaganja proupalnim citokinima (npr. TNF-α) (4). Ova složena mreža dovela je do koncepta kože kao zasebnog odjeljka imunosnog sustava u kojem keratinociti imaju važnu ulogu.

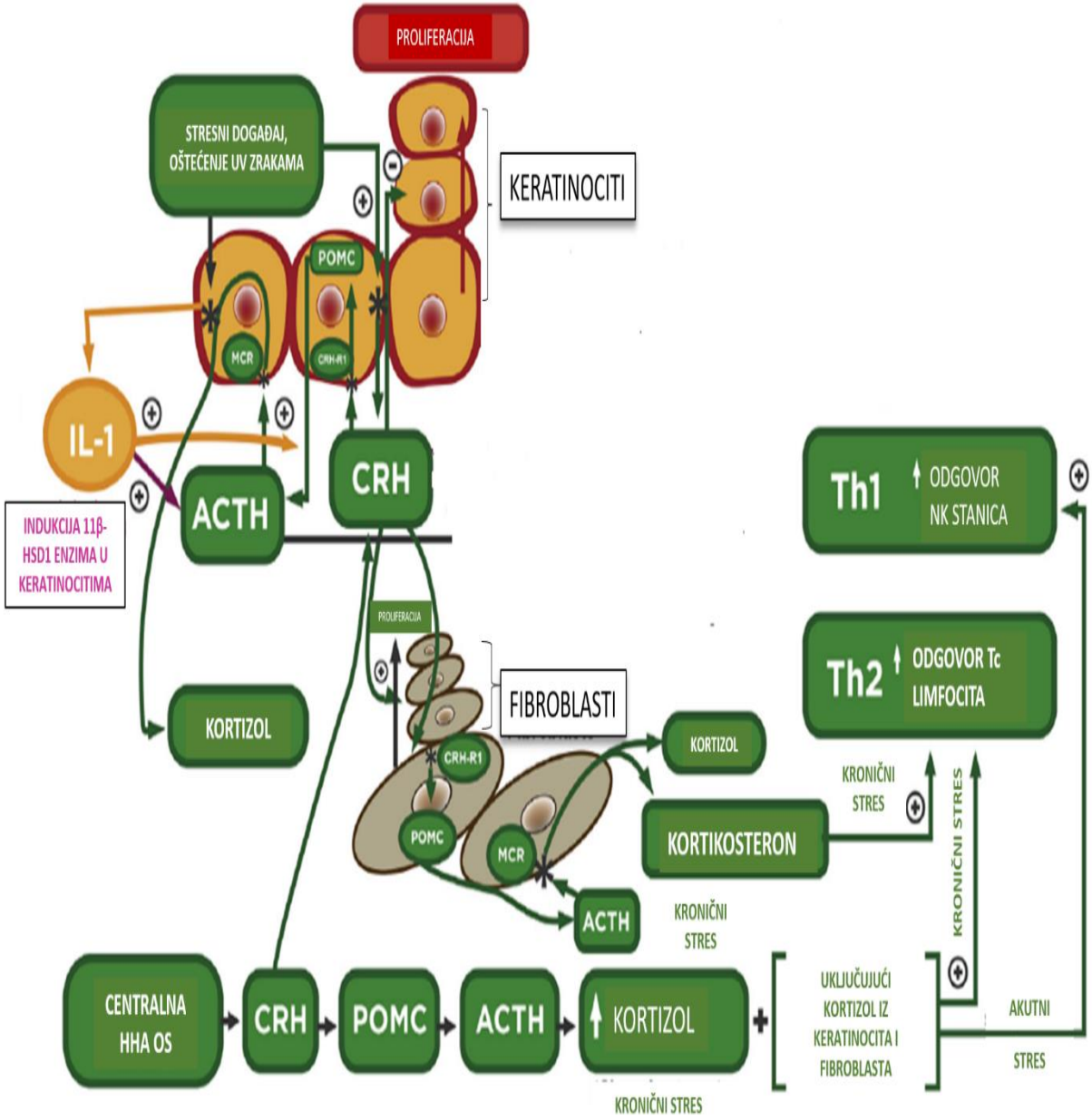
S obzirom na gore navedeno, postavljena je teorija (koja je kasnije eksperimentalno i dokazana) da periferno u koži postoji neuroendokrini kontrolni mehanizam sličan onom središnjem (tj. HHA osi) (2). Prema tome lokalna/periferna CRH-proopiomelanokortin (POMC)-ACTH-kortikosteron/kortizol os kože važna je za odgovor na stres. Stoga epidermalni keratinociti i dermalni fibroblasti luče CRH, koji veže odgovarajuće receptore (CRH-R1), čime ih potiče na proizvodnju POMC, čiji razgradni peptidni hormoni (ACTH, hormon stimulacije melanocita (MSH), β-endorfin) također vežu svoje odgovarajuće receptore, rezultirajući povećanom sekrecijom kortizola i kortikosterona (2,77,78). Izlučeni kortizol i kortikosteron potom izražavaju svoje utjecaje na imunosne reakcije i upalne bolesti kože (2,77,78). Također prema rezultatima istraživanja na uzorcima kože (*in vitro* i kultura keratinocita), sinteza kortizola uključuje enzim 11β-hidroksisteroid dehidrogenazu tipa 1 (11β-HSD1), koji je induciran povišenim razinama IL-1β i TNF-α citokina (79). Pojedini alergeni izravno aktiviraju prirođeni

imunosni sustav aktivirajući TLR što rezultira povećanim oslobađanjem IL-6 i TNF-α iz keratinocita (7). Također, pod povećanim intenzitetom PS-a, keratinociti i mastociti povećavaju lučenje IL-6 koji može prijeći krvno-moždanu barijeru i aktivirati središnju HHA os zatvarajući tako krug negativnih utjecaja PS-a (80).

Navedene spoznaje o utjecaju PS mogu se uzeti u obzir pri sagledavanju određenih bolesti kože. Tako su istraživanja provedena na bolesnicima s kontaktnim dermatitisom pokazala značajno povećani intenzitet PS-a u čak 67,7% tih ispitanika, od kojih je većina bila s AKD-om (81). Nadalje, prema istraživanjima provedenim na miševima, uočeno je da PS (poput onog u vidu socijalne distance) dovodi do intenziviranja kontaktne reakcije preosjetljivosti (82). Navedeno istraživanje pokazuje da čak i u slučaju uklanjanja alergena, ukoliko perzistira PS, simptomi svrbeža zaostaju (82).

Postoje slične spoznaje o utjecaju PS-a i na druge bolesti kože. Pojedina istraživanja pokazala su da su razine kortizola u slini odraslih bolesnika s alergijskim bolestima kože znatno povišene u odnosu na zdrave ispitanike i koreliraju s težinom kliničke slike (83). S druge strane, postoje spoznaje da je oslobađanje kortizola, u odgovoru na akutne stresore, smanjeno, kao primjerice u bolesnika s atopijskim dermatitisom (84), što se može objasniti gore navedenim poremećajem ravnoteže HHA osi. Također, istraživanja pokazuju kako bolesnici s atopijskim bolestima imaju povišeni PS dijelom zbog samog postojanja atopijske bolesti i njenog utjecaja na kvalitetu života, a djelom zbog povišenog Th2 odgovora i povećanih razina citokina (npr. IL-2, IL-12, IL-4) koji aktiviraju HHA os i mogu imati utjecaj na razine kortizola (85).

Prikaz lokalne/periferne CRH-POMC-ACTH-kortikosteron/kortizol osi u koži te ispreplitanje PNI čimbenika uslijed izloženosti akutnom i kroničnom stresu nalazi se na Slici 4.




**Slika 4.** Prikaz periferne osi CRH-POMC-ACTH-kortikosteron/kortizol u interakciji sa središnjom HHA osi, prema Pondeljak N i sur. (38).

*IL-1- interleukin 1, ACTH- adrenokrtikostropni hormon, POMC- proopiomelanokortin, CRH- kortikotropin-oslobađajući hormon, CRH-R1- receptor tipa 1 za kortikotropin-oslobađajući hormon, MCR- melanokortikotropni receptor, Th1 i Th2- pomoćnički T limfociti tipa 1 i 2, Tc- citotoksični T limfociti

### 1.4.3. Metode evaluacije psihičkog stresa

U području medicine i psihologije postoji nekoliko metoda i alata za procjenu intenziteta PS-a. U tu svrhu osmišljeni su psihometrijski upitnici kao odgovarajući alati koji mjere uglavnom promjene ponašanja i kognitivnih funkcija. Također se, u evaluaciji PS-a, koriste i brojni biokemijski markeri kao što su kortizol, ACTH, katekolamini, kromogranin A, α-amilaza, ß-endorfin, od kojih se pojedini rabe gotovo isključivo u istraživačke svrhe. U istraživanjima utjecaja PS-a na težinu bolesti i terapijski odgovor najčešće se rabe objektivni, biokemijski parametri (kortizol kao najčešće korišten biomarker stresa) te subjektivni pokazatelji bolesnikova doživljaja PS-a i utjecaja na kvalitetu života (mjereni različitim upitnicima).

#### 1.4.3.1. Objektivni pokazatelji psihičkog stresa – kortizol u slini

Danas najčešće korišten objektivni biomarker PS-a je kortizol koji, u odnosu na ostale biomarkere PS-a (primjerice α-amilaza), ima neposredan utjecaj na kožu te brojne studije, kao što je prethodno opisano, pokazuju kako se stvara čak i na lokalnoj razini u koži pri povećanoj izloženosti bilo kakvom stresoru (3,86). Rutinska dijagnostika uključuje određivanje kortizola iz seruma, što zahtijeva vađenje krvi i može u ispitanika potaknuti nelagodu te povećati razinu kortizola u organizmu rezultirajući tako lažno povišenim vrijednostima (87). Stoga, posljednjih godina, određivanje kortizola iz sline ima prednost u istraživanjima, budući da se uzorci sline mogu prikupiti bez izazivanja PS-a.

Kortizol iz sline je biološki aktivan oblik slobodnog kortizola, te ima deset puta nižu koncentraciju od ukupnog kortizola iz seruma s kojim dobro korelira tijekom cirkadijanog ciklusa (korelacija kod odraslih iznosi oko 0,75) i pouzdana je metoda za evaluaciju PS-a (88,89). Pritom je važno da su parotidna, submandibularna i sublingvalna žlijezda tri glavne žlijezde slinovnice koje proizvode više od 90% ukupne količine sline, a ostatak proizvodnje odvija se u malim žlijezdama slinovnicama koje se nalaze u usnoj šupljini. Žlijezde slinovnice okružene su brojnim kapilarama, što omogućuje slobodnu razmjenu molekula, čineći tako slinu izvorom različitih biomarkera. U serumu je samo oko 5-10% kortizola u nevezanom ili biološki aktivnom obliku, a preostali kortizol vezan je za proteine plazme. Nevezani serumski kortizol ulazi u slinu putem unutarstaničnih mehanizama te u slini većina kortizola ostaje u nevezanom/slobodnom obliku (ujedno i oblik koji mjerimo pri analizi kortizola u slini). Vrijednosti kortizola u slini nisu pod utjecajem brzine protoka sline i sam hormon relativno je otporan na razgradnju enzimima ili cikluse zamrzavanja-odmrzavanja.

Odgovor kortizola u slini na PS ipak ovisi o pojedinim čimbenicima: dobi i spolu, vrijednostima spolnih hormona, lijekovima (psihofarmaci, kortikosteridi), pušenju, prehrani, alkoholu, tjelovježbi (90). Povišene koncentracije estrogena (npr. u trudnoći, terapiji estrogenima ili oralnim kontraceptivima) mogu utjecati na vrijednosti slobodnog kortizola (analiziranog u serumu i slini) budući da povećavaju razinu proteina koji veže kortizol u serumu (*cortisol binding globulin* (CBG)) (91,92). Također, uzimajući u obzir cirkadijani ritam lučenja kortizola, najveće fluktuacije koncentracije događaju se ujutro (između 6 i 8 sati), dominantno 30 minuta nakon buđenja (dok vrijeme buđenja nema veći utjecaj na jutarnji odgovor kortizola). Također se smatra da na odgovor kortizola na PS djelomično utječu i obilježja osobnosti, razlike u sposobnosti nošenja sa stresnim situacijama, socijalna sredina i položaj u društvenoj hijerarhiji (90).

Većina navedenih čimbenika ne modulira specifično razine kortizola u slini, nego razine kortizola općenito, tj. u plazmi. Ispitanici kod kojih su prisutni određeni čimbenici koji indirektno utječu na razine kortizola u slini (poput određenih lijekova, fizičke aktivnosti, i sl.) mogu pokazivati lažne rezultate te ih je potrebno isključiti iz istraživanja.

#### 1.4.3.2. Laboratorijske tehnike prikupljanja i obrade uzoraka kortizola iz sline

Određivanje kortizola u slini za bolesnike je jednostavno i neinvazivno. Upotrebom sterilnih spremnika ili apsorbirajućih materijala (tzv. sustavi *Salivette*) ispitanik može samostalno prikupiti uzorke sline. Nakon prikupljanja u jedan od gore navedenih spremnika, zahvaljujući stabilnosti kortizola, uzorci se mogu pohraniti u hladnjaku na temperaturi od 4 do 8 °C, do 7 dana ili na -20 °C do -80 °C do 12 mjeseci (93). Prije analize uzorci se odmrznu i centrifugiraju kako bi se dobila što veća čistoća uzorka (93). Za samu analizu kortizola iz uzorka sline rabi se nekoliko tehnika: radioimunoesej test (*radioimmunoassay* (RIA)), zatim enzimsko vezani imunoapsorbirajući esej (*enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)) te u novije vrijeme tekućinski kromatograf masene spektrometrije (*liquid chromatography–mass spectrometry* (LC-MS)) (93).

Važno je ispitanicima napomenuti da se, barem 30 minuta prije prikupljanja uzorka sline, moraju suzdržati od pranja zuba, konzumiranja hrane ili pića (osim vode), pušenja te fizičke aktivnosti kako navedene aktivnosti ne bi značajnije promijenile vrijednosti kortizola. Kisela hrana ili hrana s visokim sadržajem šećera može ugroziti rezultate analize sline smanjenjem pH, utječući tako na rast bakterija koje mogu svojim enzimskim djelovanjem mijenjati koncentracije kortizola.

#### 1.4.3.3. Subjektivni pokazatelji psihičkog stresa – psihološki testovi

Za procjenu subjektivne percepcije intenziteta PS-a najčešće se u istraživanjima upotrebljava perceptivna skala stresa (*Percived stress scale* (PSS)) radi svoje jednostavnosti, kratkoće i kvalitete u stvarnoj procjeni intenziteta PS-a (94,95). Kao tip psihometrijskog instrumenta, PSS je također validiran na hrvatskom jeziku (95). PSS mjeri stupanj subjektivnog stresa procjenjujući tri osnovne komponente: pomanjkanje kontrole nad životnim događajima i emocijama, emocije vezane uz bolest i osjećaj nepredvidivosti života. Upitnik ispituje intenzitet PS-a unatrag zadnjih mjesec dana zbog čega je koristan u istraživanjima procjene utjecaja kronične izloženosti PS-u (94,95).

### 1.4.4. Nepovoljan utjecaj alergijskog kontaktnog dermatitisa na kvalitetu života oboljelih te metode evaluacije dermatološke kvalitete života

Kvaliteta života prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) definira se kao percepcija položaja pojedinca u specifičnom kulturološkom, društvenom i okolišnom okruženju, a uključuje objektivne čimbenike te subjektivno vrednovanje fizičkog, materijalnog, socijalnog i emotivnog blagostanja, obuhvaćajući osobni razvoj i svrhovitu aktivnost, promatrano kroz njegov osobni sustav vrijednosti (96). Kvaliteta života je multidimenzionalan pojam, a najbolje ju opisuje riječ blagostanje. Smatra se da ako bolest onemogućuje bilo koju dimenziju funkcioniranja/blagostanja, tada smanjuje i samu kvalitetu života.

Istraživanja pokazuju da oboljele od AKD-a najviše muči svrbež, subjektivno povećana osjetljivost kože i perzistiranje promjena kože (97). Subjektivan osjećaj svrbeža i pojava ragada na koži tijekom akutne i kronične faze bolesti mogu osobito remetiti ciklus spavanja, izazivati izrazitu bol i nelagodu te smanjenu funkciju šaka, što stvara dodatan problem oboljelima (1,97). Emocionalni čimbenici mogu, složenim PNI procesima i mehanizmima, uzrokovati, a često i pogoršati, svrbež i grebanje, što može narušiti kvalitetu života bolesnika (1,38). Prema istraživanjima, promjene na koži šaka i profesionalni AKD povezani su s lošijim ocjenama kvalitete života prema ljestvici utjecaja na zanimanje i funkcioniranje (97). Među bolesnicima s AKD-om, oni koji su prisiljeni promijeniti posao imaju veće oštećenje kvalitete života od bilo koje druge skupine bolesnika s AKD-om, sa značajno lošijim rezultatima upitnika o kvaliteti života (97). Zbog prirode izloženosti, kod navedenih osoba najčešće se radi o AKD-u šaka.

Zbog kronične naravi bolesti, kao što je primjerice kronični AKD, bolesnik se može suočavati s nizom psihičkih poremećaja i poteškoća, koji mogu varirati u vrsti i težini, ovisno o subjektivnom doživljaju bolesti. Percepcija bolesti, koja se pokazala važnom i u samom ishodu

bolesti, kao i obrazac reagiranja na izloženost PS-u ovise i o subjektivnim obilježjima/osobnosti bolesnika. Tako dvije osobe s potpuno istim simptomima bolesti mogu procijeniti svoju kvalitetu života različito, što često ovisi o osobnoj i obiteljskoj anamnezi, kvaliteti socijalne podrške i drugim, s bolešću nepovezanim, područjima života i okoliša (98).

Brojni psihometrijski testovi mogu se rabiti pri određivanju utjecaja PS-a na nastanak i težinu AKD-a te određivanju utjecaja AKD-a na kvalitetu života. Navedenim upitnicima/testovima može se procijeniti ispitanikova percepcija tjelesnih, emocionalnih, socijalnih, okolišnih i drugih čimbenika koji mogu imati utjecaj na bolest ili su njezina posljedica. Najčešće korišteni specifičan test kvalitete života u dermatologiji jest DLQI. Navedeni upitnik ima široku upotrebu, validiran je na hrvatskom jeziku te korelira s brojnim drugim psihometrijskim i dermatološkim upitnicima, što je važno kod provođenja raznih istraživanja, uključujući istraživanja koja ispituju PNI čimbenike (99).

# 2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

## 2.1. Svrha

Ispitati povezanost PNI čimbenika s težinom kliničke slike, kvalitetom života i duljinom trajanja bolesti u bolesnika s kroničnim AKD-om šaka.

## 2.2. Hipoteze

1. Bolesnici s kroničnim AKD-om šaka imaju više vrijednosti IL-6 i TNF-α u serumu, niže vrijednosti jutarnjeg kortizola u slini i viši intenzitet PS-a u odnosu na zdrave ispitanike.

2. U bolesnika s kroničnim AKD-om povišene razine IL-6 i TNF-α u serumu i niže vrijednosti jutarnjeg kortizola u slini pozitivno koreliraju s težinom kliničke slike i intenzitetom PS-a.

3. Bolesnici s kroničnim AKD-om šaka i pratećom atopijskom bolesti imaju viši intenzitet PS-a, težu kliničku sliku i više vrijednosti IL-6 i TNF-α u serumu te niže vrijednosti jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na bolesnike koji boluju samo od AKD-a šaka.

## 2.3. Ciljevi istraživanja

1. Utvrditi postojanje i prirodu razlike u razinama IL-6 i TNF-α u serumu, razinama jutarnjeg kortizola u slini i intenziteta PS-a između bolesnika s kroničnim AKD-om šaka i zdravih ispitanika.

2. Ispitati moguću povezanost razina IL-6 i TNF-α u serumu, težine kliničke slike i kvalitete života bolesnika s kroničnim AKD-om šaka.

3. Ispitati moguću povezanost intenziteta PS-a i razine jutarnjeg kortizola u slini s težinom kliničke slike te kvalitetom života bolesnika s kroničnim AKD-om šaka.

4. Ispitati moguću povezanost razine jutarnjeg kortizola u slini, razina IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta PS-a, težine bolesti i kvalitete života bolesnika s kroničnim AKD-om šaka s duljinom trajanja bolesti.

5. Odrediti postojanje razlike između bolesnika s kroničnim AKD-om šaka s pratećom atopijskom bolesti i onih bolesnika bez prateće atopijske bolesti u razinama jutarnjeg kortizola u slini, razinama IL-6 i TNF-α u serumu, intenzitetu PS-a i kvalitete života.

6. Određivanje korelacije u koncentraciji kortizola iz sline i razina kortizola u serumu.

# 3. MATERIJALI I POSTUPCI

Ovo multidisciplinarno presječno istraživanje provedeno je u KBC-u SM, u Klinici za kožne i spolne bolesti.

## 3.1. Ispitanici

U ovom istraživanju inicijalno je prisustvovao 81 ispitanik, od kojih je, u konačnici, njih 78 uključeno u istraživanje (budući da su 3 ispitanika isključena iz istraživanja zbog prisutnosti krvi u uzorku sline, što je onemogućavalo analizu istih). Među 78 ispitanika, bilo je 59 bolesnika s AKD-om šaka, a 19 zdravih pojedinaca koji su činili kontrolnu skupinu (veličina potrebnog uzorka iznosila je najmanje 50 bolesnika i 15 zdravih kontrola, a određena je temeljem statističke odrednice, izračunato uz snagu testa 80% i razinu značajnosti 0,05 putem on-line računalnog programa:http://statulator.com/SampleSize/ss2M.html, prema rezultatima dosadašnjih istraživanja dostupnih u literaturi) (66,67,81,100).

Dijagnoza AKD-a postavljena je temeljem kliničke slike i epikutanog testiranja na alergene koji se standardno koriste u Ambulanti za alergologiju Klinike za kožne i spolne bolesti, KBC-a SM, prema kriterijima i smjernicama koje su opisane u uvodnom dijelu disertacije. Bolesnici s AKD-om šaka podijeljeni su u dvije skupine: prvu skupinu činilo je 30 bolesnika koji su uz AKD šaka imali i od ranije dijagnosticiranu atopijsku bolest (tipa I reakcije preosjetljivosti; tj. alergijske reakcije na hranu, alergijski rinokonjunktivitis, alergijsku astmu, dokazane alergijske reakcije tipa I na lijekove, i/ili otprije dijagnosticiran ekstrinzični atopijski dermatitis) i 29 bolesnika s AKD-om šaka bez atopijske bolesti. Bolesnici s dokazanim AKD-om šaka trijažirani su (prikupljani) s ciljem sličnog broja bolesnika u obje skupine.

Kontrolnu (treću) skupinu činilo je 19 nasumce odabranih zdravih pojedinaca (osobe koji nisu kronični pušači i ne konzumiraju alkohol, a koji zadovoljavaju kriterije uključenja zdravih ispitanika i nemaju isključnih kriterija). Svakom ispitaniku objašnjen je protokol istraživanja i nakon potpisivanja informiranog pristanka uključeni su u istraživanje.

### 3.1.1. Kriteriji uključenja bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i prisutnom atopijskom bolesti

U istraživanje su uključeni bolesnici stariji od 18 i mlađi do 55 godina s dijagnosticiranim kroničnim AKD-om šaka (klinička slika isključivo je obuhvaćala promjene na koži šaka, uz pozitivan i relevantan odgovor epikutanog testa) (101). Prema dosadašnjim istraživanjima pokazano je kako s dobi nastaju fiziološke promjene u funkcioniranju HHA osi te da razine

kortizola u starijih pojedinaca mogu biti lažno snižene zbog čega oni nisu uključeni istraživanje (101). U ovu skupinu ispitanika s AKD-om šaka uključeni su ispitanici s pozitivnim *prick* testiranjem (ili nalazom specifičnih IgE protutijela određenih *in vitro*) na inhalacijske i/ili nutritivne alergene u skladu s anamnestički i/ili klinički od ranije dijagnosticiranom atopijskom bolesti (dijagnoza ekstrinzičnog atopijskog dermatitisa određena je prema Hanifin i Rajka kriterijima (102)).

### 3.1.2. Kriteriji uključenja bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka bez atopijske bolesti

Kriteriji za uključenje bolesnika s kroničnim AKD-om šaka bez atopijske bolesti bili su: dob starija od 18 i mlađa od 55 godina, dokazan AKD šaka (klinička slika isključivo je obuhvaćala promjene na koži šaka uz pozitivan i relevantan odgovor epikutanog testa na standardnu seriju alergena), negativno *prick* testiranje na standardne inhalacijske i nutritivne alergene u skladu s nepostojanjem atopijske bolesti.

### 3.1.3. Kriteriji uključenja zdravih ispitanika

Kriteriji uključenja zdravih ispitanika (kontrolne skupine) bili su: dob starija od 18 i mlađa od 55 godina, nepostojanje upalne i autoimune bolesti ili upalne bolesti kože, negativan odgovor epikutanog testa na standardnu seriju alergena, negativno *prick* testiranje na standardne inhalacijske i nutritivne alergene.

### 3.1.4. Kriteriji isključenja za sve ispitanike

Isključni kriteriji za sve ispitanike bili su: korištenje sustavnih antibiotika, antifungalnih, antiviralnih ili antiparazitskih lijekova, antihipertenziva, antineoplastične terapije, psihoaktivne terapije, kortikosteroida, citokina, metotreksata i imunosupresivnih agensa mjesec dana prije uključivanja u istraživanje, korištenje veće doze komercijalnih probiotika u obliku tableta i kapsula; primjena cjepiva od koje je prošlo kraće od 28 dana od uključenja u studiju; trudnoća, oralni kontraceptivi, primjena lokalnih antibiotika ili kortikosteroida od koje je prošlo manje od 7 dana od uključenja u studiju, postojanje sustavne upalne i autoimune bolesti, anamnestički podatak o neoplazmi, ranije dijagnosticirana psihijatrijska bolest, bolesti oralne sluznice, pušenje (zbog utjecaja nikotina na razine kortizola u slini) (103).

### 3.2. Način izvođenja istraživanja

Ispitanici u ovom istraživanju bili su bolesnici koji su zbog promjena kože šaka pregledavani u Ambulanti za alergologiju, Klinike za kožne i spolne bolesti, KBC-a SM. Zdravi ispitanici bili su većinom zaposlenici Klinike koji su zadovoljavali uključne kriterije za ovu skupinu te su bili voljni sudjelovati u istraživanju.

Za sudjelovanje u istraživanje upitani su svi bolesnici koji su, isključivo zbog promjena kože na šakama, imali indikaciju za provođenje epikutanog testiranja, te im je rezultat testa bio pozitivan i relevantan na barem jedan od ispitivanog alergena. Nakon davanja informiranog pristanka za sudjelovanje u istraživanju, pregledani su od strane specijalista dermatovenerologa-alergologa uz uzimanje detaljnih anamnestičkih podataka (uz naglasak na duljinu trajanja promjena kože šaka), te isključenje druge diferencijalne dijagnoze (primjerice po potrebi učinjena je mikološka analiza kože šaka radi isključenja dermatomikoza). Potom im je utvrđena težina kliničke slike korištenjem HEES upitnika (od strane istraživača uz nadzor specijalista).

Nakon toga, svi ispitanici zamoljeni da daju uzorak sline prema niže navedenom protokolu u metodologiji disertacije. Tek nakon davanja uzorka sline ispitanicima su uzeti uzorci seruma, kako venepunkcija ne bi zbog izazvanog PS utjecala na rezultate kortizola u slini. Po završetku uzimanja uzoraka, bolesnici su ispunili PSS i DLQI upitnike. Svim bolesnicima s AKD-om šaka potom je učinjeno *prick* testiranje na inhalacijske i nutritivne alergene (ili *in vitro* test za specifični IgE) niže opisanim postupkom u metodologiji disertacije.

Zdravim ispitanicima uzeta je detaljna anamneza radi provjere uključnih i isključnih kriterija, te su nakon potpisivanja informiranog pristanka bili zamoljeni dati uzorak sline i seruma. Na kraju su ispunili PSS upitnik.

### 3.3. Procjena težine i duljine trajanja alergijskog kontaktnog dermatitisa

Bolesnicima je pri pregledu dermatovenerologa-alergologa određena težina kliničke slike i ispitana duljina trajanja AKD-a šaka. Kronični oblik AKD-a šaka smatran je onim koji traje u kontinuitetu dulje od tri mjeseca i/ili recidivira više od dva puta godišnje te se u kliničkoj slici uočava lihenifikacija, ragade i fisure (1,104). Kao mjerni instrument za određivanje težine kliničke slike AKD-a šaka, za ovo istraživanje, je izabrana HEES validirana mjerna skala, prvenstveno radi jednostavnosti korištenja te njene dokazane korelacije s DLQI upitnikom, koji je također korišten u ovom istraživanju (21). Sustav bodovanja temelji se na označavanju

postojanosti promjene kože za svako uključeno anatomsko mjesto, gdje se svakoj lokalizaciji s promjenom kože pridodaje 1 bod, s iznimkom bodova za dorzum i dlan šake gdje 0 bodova označava odsutnost promjena, 2 boda zahvaćenost manje od dvije trećine površine dlana ili dorzuma te 4 boda zahvaćenost više od dvije trećine površine dlana ili dorzuma. Raspon mogućeg rezultata za svaku šaku je 0–37, s najviše 74 boda za obje šake. Prema rezultatima, težinu bolesti se može grupirati u 4 kategorije: vrlo blaga (1–3), blaga (4–5), umjerena (6–12) i teška (>13) (21).

### 3.4. Upitnik anamnestičkih podataka

Anamnestički podaci o bolesniku ispitani su kratkim upitnikom te, po potrebi, uvidom u medicinsku dokumentaciju. Ključna pitanja uključivala su ona o obrazovanju, prisutnosti bolesti usne šupljine i psihijatrijskih bolesti ili poremećaja, procjeni duljine trajanja AKD-a šaka, prisutnosti drugih bolesti koje su potencijalni isključni kriteriji te podacima o uzimanju lokalne i sustavne terapije mjesec dana prije uključenja u istraživanje.

### 3.5. Psihološki testovi

Subjektivna procjena intenziteta PS-a određena je samostalnim ispunjavanjem PSS upitnika (81,94,95). Upitnik uključuje 10 pitanja prema Likertovom tipu skale 0-4. Niska razina PS-a bila je izražena ukupnim zbrojem bodova od 0 do 13, umjerena razina zbrojem od 14 do 26 i visoka razina zbrojem od 27 do 40 bodova. Svi ispitanici ispunili su PSS upitnik, a vremenski se upitnik odnosi na izloženost PS-u u posljednjih mjesec dana. Pouzdanost upitnika je dobra i kreće se od 0,84 do 0,86 (94).

Unatoč postojanju mnogih generičkih dermatoloških instrumenata kvalitete života, niti jedan nije specifično osmišljen za bolesnike s AKD-om šaka pa je za ovu namjeru korišten validiran DLQI upitnik (99,105). DLQI upitnik osmišljen je za dermatološke bolesnike starije od 16 godina, a obuhvaća ukupno 10 pitanja o procjeni ograničavajućeg djelovanja dermatološke bolesti u svakodnevnom životu bolesnika po pojedinim domenama, vremenski orijentirano na razdoblje tijekom proteklog tjedna. Za svako pitanje ponuđeno je više odgovora kojima se označuje koliko bolest kože utječe na pojedinu komponentu kvalitete života (“vrlo mnogo”, “mnogo”, “malo”, “nimalo”, “ne odnosi se na moj slučaj”). Ukupni rezultat zbroj je rezultata za svako pitanje, a viši rezultat upućuje na veći utjecaj bolesti kože na pogoršanje kvalitete života. Ukupni rezultat od 0 boda znači odsutnost utjecaja bolesti na kvalitetu života, a rezultat od 30 bodova označava maksimalan negativan utjecaj. Prema rezultatima, ispitanici se tako

mogu svrstati u grupe: 0-1 (nema utjecaja), 2-5 (malen utjecaj), 6-10 (umjeren utjecaj), 11-20 (velik utjecaj), 21-30 (izrazito velik utjecaj). Pouzdanost upitnika je dobra i iznosi od 0,70 do 0,90 u različitim istraživanjima (99).

### 3.6. Uzimanje uzorka sline i seruma za određivanje vrijednosti kortizola

Objektivne vrijednosti intenziteta PS-a ispitane su uzimanjem jutarnjeg uzorka sline za analizu razina kortizola, metodom „pljuvanja". Uzimajući u obzir cirkadijani ritam lučenja kortizola, njegove najveće koncentracije očekuju se u jutarnjim satima kada se uzorkovanje i izvodilo (između 6 i 8 sati, nakon buđenja razina slobodnog kortizola poraste od 50% do 75%) (106). Svi ispitanici prethodno su zamoljeni da se 90 minuta prije uzorkovanja suzdržavaju od jela, pića, pušenja i pranja zubi. Neposredno prije uzimanja uzorka sline, svi ispitanici isprali su usnu šupljinu vodom. Pri metodi „pljuvanja", ispitanik je sakupljao slinu u ustima tijekom 5 minuta, a potom ju ispljunuo u graduiranu epruvetu (*Salivette*) (približno 2,0 do 2,5 mL sline). Kod ispitanika nisu primjenjivana sredstva za stimulaciju sekrecije sline.

Uzorci sline odmah su poslani u laboratorij (Klinički zavod za kemiju, KBC-a SM) i uskladišteni na -80℃ do analiziranja u svrhu istraživanja. U trenutku analize kortizola u slini, prvo su zamrznuti uzorci ostavljeni na sobnoj temperaturi 30 minuta, a zatim centrifugirani na 3,500 rpm tijekom 20 minuta. Dobiveni čisti supernatant potom je prebačen u *Eppendorf* epruvete, uz primjenu odgovarajućih volumetrijskih uzoraka. Prisutnost krvi u slini testirana je vizualnim očitavanjem, a uzorci sline koji su sadržavali krv isključeni su iz istraživanja (točnije 3 uzorka).

U istraživanju je za analizu vrijednosti kortizola u slini, korištena ELISA metoda, pomoću kita *Cortisol Saliva* ELISA, tvrtke EUROIMMUN®, Lübeck, Njemačka. Metoda ELISA služi za određivanje i kvalificiranje specifičnih proteina u uzorcima pomoću protutijela označenih enzimima koja se direktno vežu za tražene/navedene proteine te dodatkom supstrata za enzim dovode do reakcije koja se detektira i mjeri. EUROIMMUN® *Cortisol Saliva* ELISA kit je kompetitivni imunološki test specifično osmišljen i validiran za kvantitativno mjerenje kortizola u slini i koristi se isključivo u istraživačke svrhe. U navedenom kompetitivnom kompletu za imunotestiranje, kortizol se u uzorcima natječe s kortizolom konjugiranim s peroksidazom za mjesta vezanja protutijela na mikrotitarskoj ploči. Nepoznata količina kortizola u uzorku sline i poznata količina peroksidazom obilježenog kortizola natječu se za mjesta vezanja protutijela tijekom inkubacije. Nevezani kortizol se uklanja ispiranjem, a boja nastala tijekom sljedeće inkubacije supstrata neizravno je proporcionalna koncentraciji

kortizola u uzorcima. Fotometrijsko mjerenje intenziteta boje izvodi se na valnoj duljini od 450 nm uz referentnu valnu duljinu između 620 nm i 650 nm, prema uputama proizvođača EUROIMMUN® *Cortisol Saliva* ELISA kita. Količina otkrivenog konjugata kortizola obrnuto je proporcionalna količini prisutnog slobodnog kortizola u uzorku sline. Referentne prosječne koncentracije kortizola, mjerene ELISA testom prethodno navedenog proizvođača, kreću se od 0,55 do 12,14 nmol/l, pri 95% pouzdanosti mjereno u razdoblju od 24 sata, uz median koji iznosi 3,59 nmol/l. Za razdoblje od 6 do 8 sati ujutro (kada je učinjeno uzorkovanje naših ispitanika) medijan rezultata ovim testom iznosi 9,83 +/- 4,11 nmol/l. Minimalna koncentracija kortizola koja se može razlikovati ovim testom je 0,41 nmol/l. Određeni steroidni hormoni mogu imati križne reakcije s kortizolom u navedenom testiranju (npr. prednizolonom (17%), 11-deoksikortizolom (4,6%) i kortikosteronom (1,25%), prednizon (1,3%), 17α-hidroksiprogesteron (0.69%), dok za ostale hormone iznosi manje od 0,5%) (prema uputama EUROIMMUN® *Cortisol Saliva* ELISA kita).

Nakon uzorkovanja kortizola iz sline ispitanicima je uzet uzorak seruma za analizu imunosnih pokazatelja i kortizola. Uzorci sline ispitanika za analizu kortizola uzeti su prije uzimanja uzorka seruma, kako bi se izbjegao utjecaj PS nastalog uslijed samog postupka vađenja krvi na koncentraciju kortizola. Dodatna analiza kortizola u serumu učinjena je zbog procjene korelacije s vrijednostima kortizola u slini. Određivanje razine kortizola u serumu izvedeno je metodom elektrokemiluminiscenscije (*electrochemiluminescence immunoassay* (ECLIA)) u Kliničkom zavodu za endokrinologiju, KBC-a SM. ECLIA je kvantitativna metoda za mjerenje antigena ili protutijela (u ovom slučaju kortizol), a temelji se na promjeni signala elektrokemiluminiscencije prije i nakon imunoreakcije (107). Referentne vrijednosti kortizola u serumu mjerene ovim testom iznose 171 – 536 nmol/l, i odnose se za period testiranja 6-8 sati ujutro (107).

### 3.7. Uzimanje uzorka seruma za određivanje vrijednosti IL-6 i TNF-α

Određivanje imunosnih pokazatelja uključivalo je određivanje koncentracija citokina IL-6 i TNF-α u serumu primjenom metode kemiluminiscencije. Navedeno je analizirano u Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu, KBC-a SM, pomoću analizatora IMMULITE® 1000 (Simens) te analizatora FACSCalibur™ (Becton Dickinson).

Kemiluminiscentna imunoanaliza je tehnika gdje je pravi "indikator" analitičke reakcije, luminescentna molekula. Općenito, luminiscencija je emisija vidljivog ili skoro vidljivog ($\lambda$ = 300–800 nm) zračenja koje nastaje kada elektron prijeđe iz pobuđenog stanja u osnovno stanje.

Rezultirajuća potencijalna energija u atomu oslobađa se u obliku svjetlosti. Tijekom procesa koriste se enzimima obilježena protutijela i antigeni za otkrivanje razina malih bioloških molekula (108). Referentne vrijednosti za navedene citokine mjerene ovim testom iznose: za IL-6 0-7 pg/ml i za TNF-α 0-8,1 pg/ml (IMMULITE® 1000 i FACSCalibur™).

### 3.8. Alergološka testiranja

Epikutano testiranje provedeno je na seriji alergena, prikazanih u Tablici 2., proizvođača Chemotechnique Diagnostics, poštivajući kriterije i smjernice opisane u uvodnom dijelu. Test je očitan nakon 48 i 72 sata te nakon 7 dana, prema kriterijima ICDRG (19).

Alergeni korišteni u *prick* testu bili su grinje *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*, epitel mačke, epitel psa, mješavina peludi trava, pelud stabala (breze, lijeske, čempresa, masline, platane, topole), pelud korijena (ambrozije (limunđika), pelina, maslačka), lateks i plijesni (*Aspergillus fumigatus*) (Diater laboratorio, Španjolska). *Prick* testom su testirani i nutritivni alergeni: kravlje mlijeko, jaje, gluten, pšenično brašno, kakao, badem, orah, kikiriki, jabuka, naranča, banana, rajčica, grah, svinjetina, govedina, piletina, srdela, brašno soje, sezam, lješnjak, jagoda, kivi, lubenica, ananas, breskva, tuna, lignja, škampi, dagnje (Diater laboratorio, Španjolska). Kao pozitivna kontrola pri određivanju reakcije kože poslužila je komercijalna otopina histamina (10 mg/mL histamina), a kao negativna kontrola komercijalna otopina pufera. Reakcija kože određena je 20 minuta nakon uboda, mjerenjem najvećeg promjera nastale urtike (D) i promjera okomitog na njega na polovici njegove dužine (d) (u milimetrima). Rezultat je izražen kao srednji promjer urtike prema jednadžbi (D+d)/2. Pozitivnom reakcijom smatrana je razlika u srednjem promjeru urtike >3 mm u odnosu na negativnu kontrolu u istog ispitanika (25).

### 3.9. Statističke metode

Shapiro-Wilkovljev test korišten je se za procjenu toga slijede li podaci normalnu distribuciju. Povezanost razine jutarnjeg kortizola u slini, IL-6, TNF-α u serumu, intenziteta PS, kvalitete života, težine kliničke slike s duljinom trajanja bolesti procijenjena je Spearmanovom korelacijom s obzirom da su podaci imali normalnu distribuciju. Isti testovi upotrijebljeni su i za procjenu korelacije razina kortizola u slini s onima iz seruma. Za pozitivne korelacije, dodatno je korištena i linearna regresijska analiza. Postojanje razlika u razinama kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta PS-a i DLQI u bolesnika s AKD-om i atopijskom bolesti i onih bez atopijske bolesti testirana je Mann-Whitneyevim testom. Isti testovi korišteni

su i za usporedbu PS-a i kvalitete života između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika. Jačina učinka, kao mjera veličine razlika između skupina, procijenjena je pomoću formule $r=Z/\sqrt{N}$ kod Mann-Whitneyevog testa, odnosno po formuli $r=\sqrt{(t2/(t2+df))}$. Za interpretaciju rezultata su korišteni sljedeći kriteriji: 0,14-0,36 mala veličina učinka, 0,36-0,50=umjerena te >0,5=velika jačina učinka.

Za usporedbu parametara između skupina formiranih nakon kategorizacije bolesnika korišteni su Kruskal-Wallisov test s Mann-Whitneyevim post-hoc testom uz Bonferronijevu korekciju. Jačina učinka za Kruskal-Wallisov test izračunata je formulom $\varepsilon 2=\chi 2/n-1$. Za interpretaciju je korišten kvadrirani iznos r uz sljedeće kriterije: r=0,14-0,36 mala veličina učinka, 0,36-0,50=umjerena te >0,5=velika jačina učinka.

Sve analize učinjene su u komercijalnom softveru IBM SPSS 22 (IBM Corp, Armonk, SAD).

### 3.10. Etička pitanja

Svi ispitanici pročitali su i potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u ovom istraživanju. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva KBC-a SM (klasa: 003-06/21-02/001) na 83. sjednici održanoj dana 14.01.2021. godine, te Etičkog povjerenstva Stomatološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu (broj: 05-PA-30-XXV-3/2021) na 25. sjednici održanoj 18.03.2021. godine.

# 4. REZULTATI

## 4.1. Osnovni podaci o uzorku

Za ovo istraživanje inicijalno je prikupljen 81 ispitanik (61 bolesnika s AKD-om šaka i 20 zdravih ispitanika), od kojih je 3 ispitanika bilo isključeno prilikom analize kortizola u slini zbog uočene prisutnosti krvi u uzorku. Krajnji uzorak ispitanika u našem istraživanju činilo je 78 ispitanika: 59 bolesnika s AKD-om šaka (od kojih njih 30 s pratećom atopijskom bolesti i 29 bez prateće atopijske bolesti) i 19 zdravih ispitanika. Po spolu, uzorak je činilo 73% osobe ženskog spola. Medijan dobi iznosio je 38 godina uz interkvartilni raspon 28,2-53 godine i prosječnu dob od 40,2 godine. Deskriptivna statistika uzorka prikazana je u Tablici 4. Nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli spolova između ispitivanih skupina (Tablica 5.). Medijan duljine trajanja bolesti kroničnog AKD-a šaka u 59 ispitanika iznosio je 3 godine (najkraće 1 te najdulje 12 godina). Po učestalosti pozitivnih alergena u epikutanom testu u bolesnika s AKD-om šaka, tri najčešća alergena bila su: nikal sulfat (40,68% ispitanika), kobalt klorid (30,51% ispitanika) i timerosal (13,56% ispitanika), dok je 35,69% ispitanika bilo pozitivno na više od jednog alergena.

**Tablica 4.** Deskriptivna statistika uzorka

| Varijabla | N | Medijan | Interkvartilni raspon | Prosjek | SD | Min | Maks |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **IL-6 (pg/ml)** | 78 | 1,40 | 1,40-2,00 | 2,08 | 1,71 | 1,4 | 13,4 |
| **TNF-α (pg/ml)** | 78 | 6,00 | 4,90-7,10 | 6,34 | 2,46 | 3,9 | 22,7 |
| **Kortizol u slini (nmol/l)** | 78 | 17,88 | 8,68-26,82 | 21,82 | 16,32 | 0,2 | 82,2 |
| **PSS** | 78 | 16,0 | 12,0-21,3 | 16,6 | 6,4 | 5 | 33 |
| **DLQI** | 59 | 6,0 | 3,0-10,0 | 6,9 | 4,8 | 0 | 24 |
| **HEES** | 59 | 10,0 | 5,0-16,0 | 11,9 | 7,8 | 2 | 46 |

*N- ukupni broj ispitanika, SD- standardna devijacija, Min-minimalno, Maks- maksimalno

**Tablica 5.** Spolna razdioba uzroka.

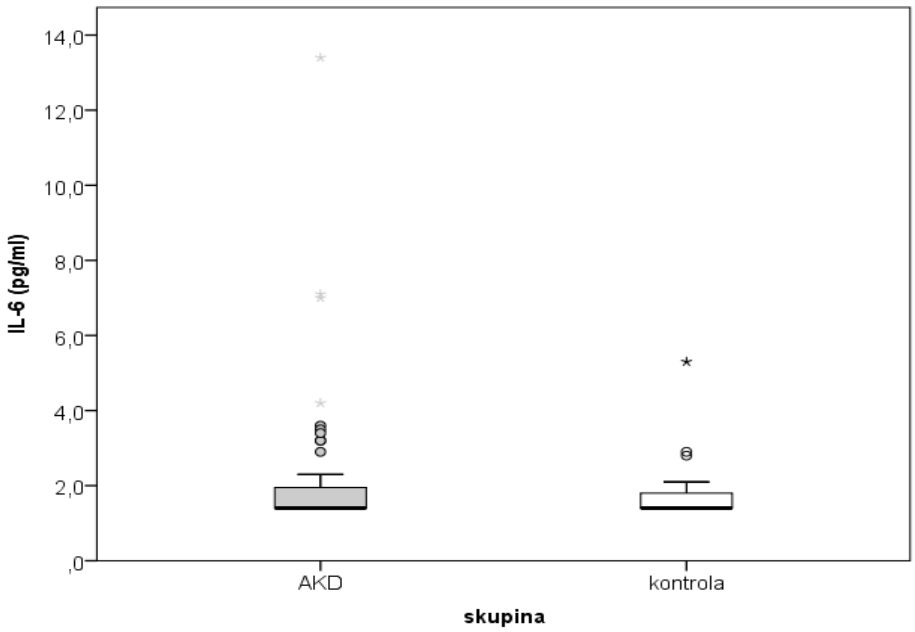
| | skupina | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Spol (N)** | **AKD bez atopijske bolesti** | **AKD s atopijskom bolesti** | **kontrola** | **ukupno** |
| **Muški** | 11 | 2 | 8 | 21 |
| **%** | 24,4% | 14,3% | 42,1% | 26,9% |
| **Ženski** | 34 | 12 | 11 | 57 |
| **%** | 75,6% | 85,7% | 57,9% | 73,1% |
| **Ukupno** | 45 | 14 | 19 | 78 |
| **%** | 100% | 100% | 100% | 100% |

### 4.2. Usporedba između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika u razinama IL-6 i TNF-α u serumu, jutarnjeg kortizola u slini i intenziteta psihičkog stresa.

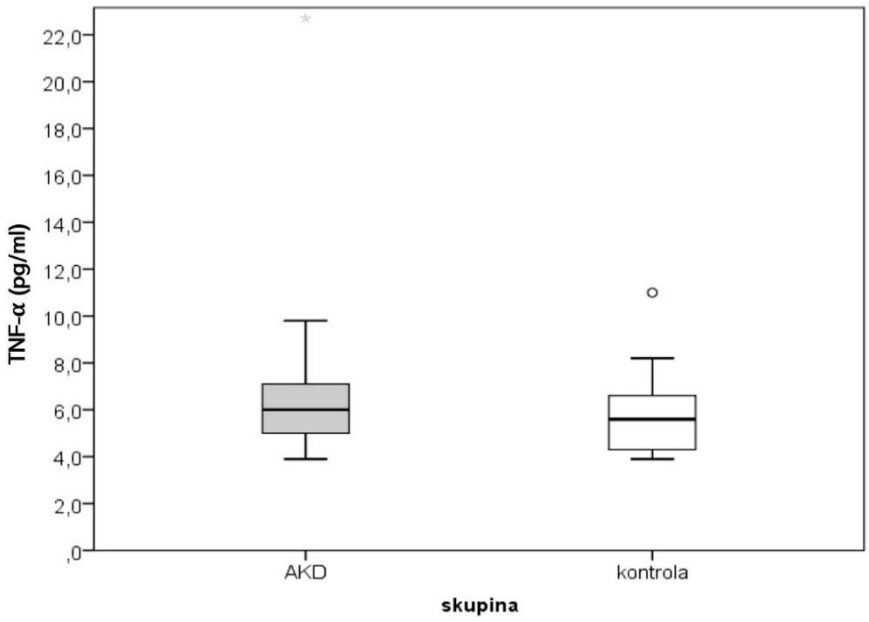
U ispitanika u ovom istraživanju, razine citokina IL-6 i TNF-α u serumu nisu se značajno razlikovale između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika (Tablica 6., Slike 5. i 6.). U odnosu na zdrave ispitanike, u bolesnika s AKD-om šaka jutarnji kortizol u slini je bio statistički značajno niži, a PSS viši ($p \leq 0,001$; Tablica 6., Slike 7. i 8.). Prema statističkoj obradi, jačina učinka bila je veća za razliku u PSS rezultatima, nego za razliku u razinama jutarnjeg kortizola u slini ($r=0,425$ i $r=0,392$).

**Tablica 6.** Usporedba razina IL-6, TNF- α u serumu, kortizola u slini i PSS-a između bolesnika s AKD-om i zdravih ispitanika. Vrijednosti su označene kao medijan (interkvartilni raspon).

| **varijabla** | **AKD** | **Zdravi** | **p** | **r** |
|---|---|---|---|---|
| **IL-6 (pg/ml)** | 1,40 (1,40-2,00) | 1,40 (1,40-2,10) | 0,583 | 0,062 |
| **TNF-α (pg/ml)** | 6,0 (5,0-7,1) | 5,6 (4,3-6,6) | 0,073 | 0,203 |
| **Kortizol u slini (nmol/l)** | 14,94 (7,7-24,5) | 26,8 (21,2-38,9) | **0,001** | **-0,392** |
| **PSS** | 17 (14-23) | 12 (8-16) | **<0,001** | **0,425** |

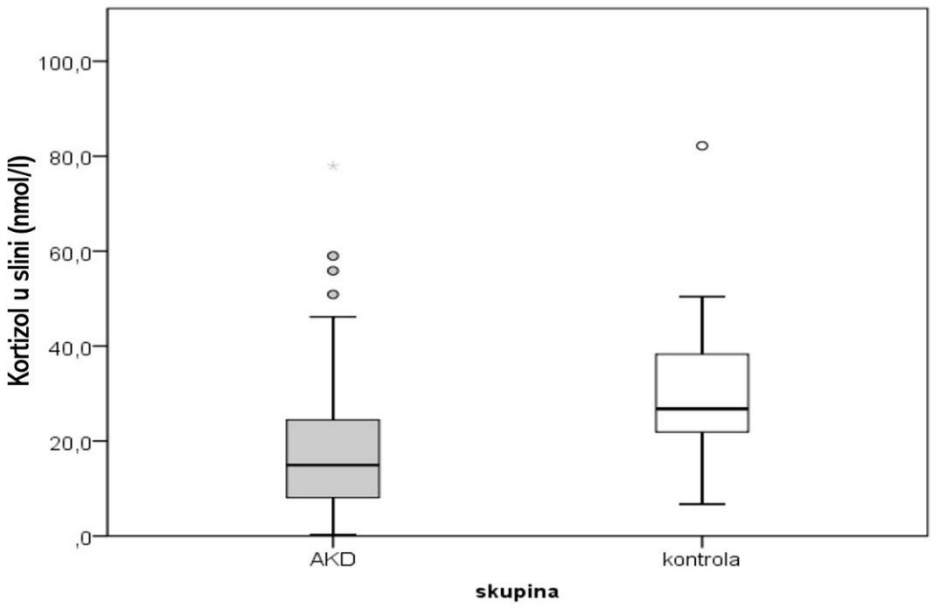



**Slika 5.** Usporedba razine IL-6 u serumu između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika (* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće, a zvjezdice ekstremne vrijednosti)



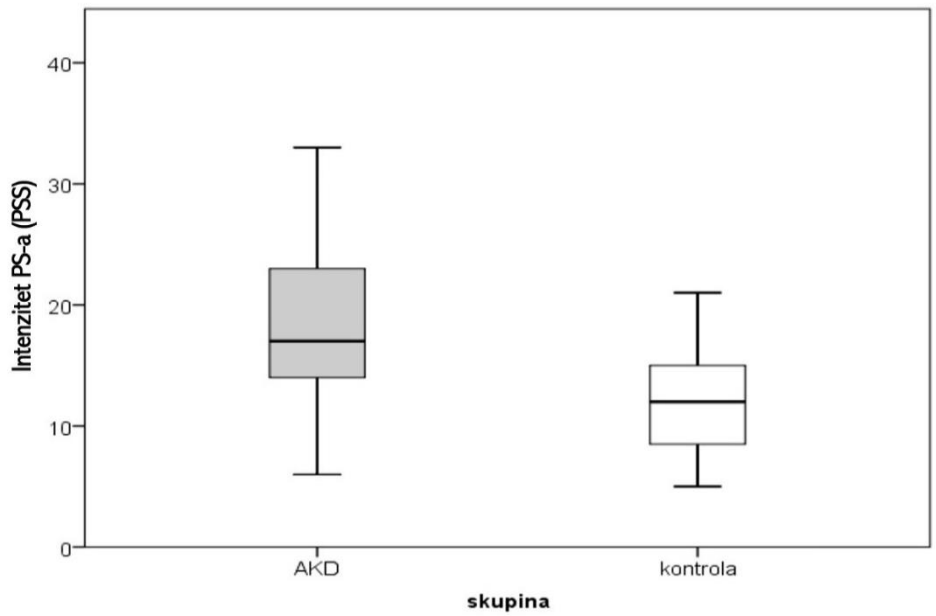

**Slika 6.** Usporedba razine TNF-α u serumu između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika

(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće, a zvjezdice ekstremne vrijednosti)




**Slika 7.** Usporedba razina jutarnjeg kortizola u slini između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika

(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće, a zvjezdice ekstremne vrijednosti)




**Slika 8.** Usporedba intenziteta PS-a (mjerenog PSS-om) između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika,

(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće, a zvjezdice ekstremne vrijednosti)

### 4.3. Ispitivanje povezanosti razina IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i razina jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na težinu kliničke slike i kvalitetu života bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka

U ispitanika s kroničnim AKD-om šaka vrijednosti IL-6 i TNF-α u serumu nisu bile povezane s HEES i DLQI rezultatom (težinom kliničke slike i dermatološkom kvalitetom života bolesnika) (Tablica 7.). Intenzitet PS-a i jutarnji kortizol u slini također nisu bili povezani s HEES rezultatom (težinom kliničke slike bolesnika s AKD-om šaka) (Tablica 7.).

Ipak, statistička analiza pokazala je da je DLQI (dermatološka kvaliteta života) bolesnika s kroničnim AKD-om šaka statistički značajno povezana s HEES rezultatom (težinom kliničke slike) i s PSS rezultatom (intenzitetom PS-a) ($r=0,399$ i $0,492$; $p=0,002$ i $p<0,001$, Tablica 7.). Ta povezanost je umjerena, linearna i pozitivna. Tako s porastom rezultata HEES-a i PSS-a raste i DLQI rezultat (narušenost dermatološke kvalitete života).

Prema našem istraživanju, multipla linearna regresijska analiza pokazuje da su rezultati HEES-a (težina kliničke slike) i PSS-a (intenzitet PS-a) jedini značajni prediktori kvalitete života kada se kontrolira dob, spol, duljina trajanja bolesti, jutarnji kortizol u slini te IL-6 i TNF-α u serumu. Samostalni doprinos intenziteta PS-a objašnjenju varijabiliteta dermatološke kvalitete života je 25%, a doprinos težine kliničke slike 17% (Tablica 8.).

**Tablica 7.** Povezanost između parametara u serumu i slini, kvalitete života, težine i trajanja bolesti u bolesnika s AKD-om šaka procijenjena Spearmanovim korelacijama (N=59)

| Varijabla | | IL-6 (pg/ml) | TNF (pg/ml) | DQLI | HEES | PSS | Trajanje bolesti | Kortizol u slini |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **IL-6 (pg/ml)** | r | 1,000 | 0,180 | -0,088 | 0,071 | -0,132 | 0,034 | 0,148 |
| | p | . | 0,171 | 0,506 | 0,594 | 0,320 | 0,800 | 0,264 |
| **TNF (pg/ml)** | r | 0,180 | 1,000 | 0,066 | 0,062 | -0,039 | 0,035 | 0,049 |
| | p | 0,171 | . | 0,620 | 0,639 | 0,770 | 0,793 | 0,711 |
| **DQLI** | r | -0,088 | 0,066 | 1,000 | **0,399** | **0,492** | -0,024 | 0,008 |
| | p | 0,506 | 0,620 | . | **0,002** | **<0,001** | 0,854 | 0,955 |
| **HEES** | r | 0,071 | 0,062 | **0,399** | 1,000 | -0,048 | 0,020 | -0,247 |
| | p | 0,594 | 0,639 | **0,002** | . | 0,716 | 0,881 | 0,060 |
| **PSS** | r | -0,132 | -0,039 | **0,492** | -0,048 | 1,000 | -0,204 | 0,053 |
| | p | 0,320 | 0,770 | **<0,001** | 0,716 | . | 0,121 | 0,692 |
| **Trajanje bolesti** | r | 0,034 | 0,035 | -0,024 | 0,020 | -0,204 | 1,000 | -0,096 |
| | p | 0,800 | 0,793 | 0,854 | 0,881 | 0,121 | . | 0,469 |
| **Kortizol/slina (nmol/l)** | r | 0,148 | 0,049 | 0,008 | -0,247 | 0,053 | -0,096 | 1,000 |
| | p | 0,264 | 0,711 | 0,955 | 0,060 | 0,692 | 0,469 | . |

**Tablica 8.** Regresijska jednadžba za analizu prediktora narušenosti kvalitete života

| | Nestandardizirani koeficijent | | Standardizirani koeficijent | | korelacije | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | B | SE | Beta | p | Nultog reda | Parc. | Seminparc. |
| **(kon.)** | -3,2 | 1,7 | | | | | |
| **PSS** | 0,4 | 0,1 | 0,5 | **<0,001** | 0,493 | 0,553 | 0,508 |
| **HEES** | 0,3 | 0,1 | 0,4 | **<0,001** | 0,396 | 0,476 | 0,414 |

*R=0,644, $R^2$=0,414, prilagođeni $R^2$=0,393, p<0,001.

*kon- konstanta, parc- parcijalna, semiparc- semiparcijalna

### 4.4. Ispitivanje povezanosti razine jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i kvalitete života bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka s duljinom trajanja bolesti

Duljina trajanja bolesti nije bila povezana s razinama jutarnjeg kortizola u slini, razinama IL-6, TNF-α u serumu, PSS-om, kao ni DLQI rezultatom u bolesnika s AKD-om šaka (Tablica 7.). Medijan duljine trajanja bolesti AKD-a šaka (određivan u 59 bolesnika s AKD-om šaka) iznosio je 3 godine (najkraće 1 te najdulje 12 godina). Medijan duljine trajanja bolesti u bolesnika s AKD-om šaka s atopijskom bolesti bio je neznatno veći od medijana trajanja bolesti u bolesnika s AKD-om šaka bez atopijske bolesti (4 godine u odnosu na 3 godine (najkraće 1, a najdulje 12 godina u obje skupine)).

### 4.5. Usporedba bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka s pratećom atopijskom bolesti i onih bolesnika bez prateće atopijske bolesti u razinama jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i dermatološke kvalitete života

Od 59 bolesnika s AKD-om šaka, njih 30 je imalo prateću atopijsku bolest te su svi imali dokazan pozitivan IgE na neki od inhalacijskih alergena. Od navedenih 30 bolesnika s pratećom atopijskom bolesti, njih 14 imalo je i ekstrinzični atopijski dermatitis. Od 14 bolesnika s AKD-om šaka i atopijskim dermatitisom, njih 35,71% imalo je pozitivan epikutani test na nikal sulfat, te njih 21,43% na kobalt klorid, a navedeni su alergeni bili ujedno i najzastupljeniji u toj skupini. U navedenoj skupini bolesnika uočene su češće pozitivne reakcije u epikutanom testu na nemetalne alergene (primjerice peruvijanski balzam, smjesa mirisa, timerosal, živin precipitat, guma) u odnosu na one bez atopijskog dermatitisa, koji su također većinski bili pozitivni na metale, ali rjeđe na nemetalne alergene. Svih 14 bolesnika s AKD-om šaka koji su imali i atopijski dermatitis također su imali i pozitivan IgE na neki od inhalacijskih alergena, i anamnezu postojanja alergijskog rinokonjunktivitisa.

Od preostalih 16 ispitanika u skupini bolesnika s AKD-om šaka s pratećom atopijskim bolestima (a koji nisu imali atopijski dermatitis), svi su imali pozitivan IgE na neki od inhalacijskih alergena i anamnezu postojanja alergijskog rinokonjunktivitisa.

Od 30 ispitanika s pozitivnim IgE na neki od inhalacijskih alergena, njih 11 imalo je pozitivan IgE na nutritivne alergene. Samo dva ispitanika imala su alergijsku astmu.

Nije bilo značajnih razlika između ispitanika s AKD-om šaka s pratećom atopijskom bolesti i onih bez prateće atopijske bolesti u razinama jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, PSS rezultatu, niti u rezultatima HEES i DLQI upitnika (Tablica 9.).

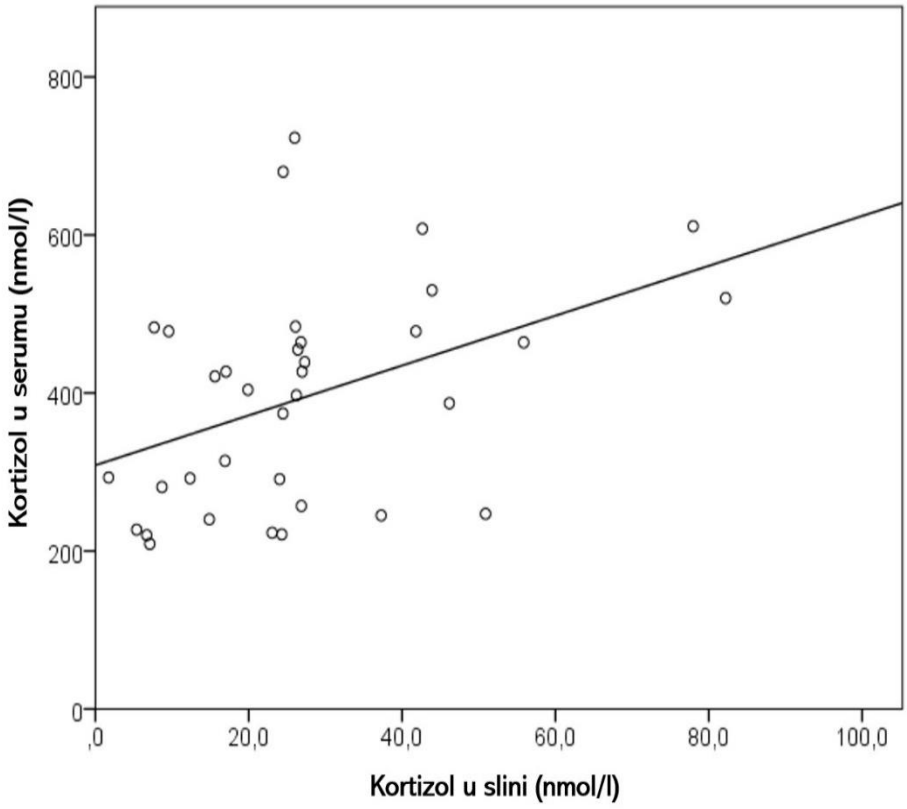
Ipak, vidljiva je tendencija da oni s pratećom atopijom imaju nešto viši IL-6, niži jutarnji kortizol u slini, viši PSS i viši DLQI (Tablica 9). Uočena je tendencija da ispitanici s pratećom atopijskom bolesti imaju nešto niži HEES (Tablica 9.).

**Tablica 9**. Usporedba ispitivanih parametara između skupina bolesnika s AKD-om šaka s obzirom na prisutnost pridružene atopijske bolesti. Vrijednosti su označene kao medijan (interkvartilni raspon).

| varijabla | AKD bez atopijske bolesti | AKD s atopijskom bolesti | p | r |
|---|---|---|---|---|
| **IL-6 (pg/ml)** | 1,40 (1,40-2,00) | 1,65 (1,40-2,00) | 0,352 | 0,046 |
| **TNF-α (pg/ml)** | 6,00 (5,00-7,80) | 6,00 (4,88-7,00) | 0,426 | 0,056 |
| **Kortizol u slini (nmol/l)** | 15,59 (7,56-25,24) | 13,41 (8,27-19,37) | 0,618 | 0,081 |
| **PSS** | 17,0 (13,5-22,5) | 21,0 (15,5-23,3) | 0,184 | 0,024 |
| **DLQI** | 5,0 (3,0-9,0) | 9,0 (3,8-12,0) | 0,113 | 0,015 |
| **HEES** | 11,0 (5,0-17,0) | 9 (5,8-16,0) | 0,908 | 0,118 |

### 4.6. Korelacija u koncentraciji jutarnjeg kortizola iz sline u odnosu na jutarnji kortizol iz seruma radi procjene vjerodostojnosti kortizola u slini kao biomarkera psihičkog stresa

Usporedbom koncentracije jutarnjeg kortizola iz sline u odnosu na jutarnji kortizol iz seruma, uočena je statistički značajna povezanost, koje je bila umjerena, linearna i pozitivna (r=0,471; p=0,004; Slika 9.). U našem istraživanju prema regresijskoj jednadžbi y=309,6+3,2x, porast kortizola u slini za 1 nmol/L povećavao je razinu kortizola u serumu za 3,2 nmol/L. U linearnoj regresiji provjeren je odnos uz kontrolu dobi i spola, no ta dva parametra nisu mijenjala odnos kortizola u slini, ni u serumu.




**Slika 9.** Dijagram raspršenja za analizu povezanosti kortizola u slini i kortizola u serumu

### 4.7. Statistička obrada podataka prema kategorizaciji ispitanika

U ovom istraživanju provedena je dodatna usporedba između skupina formiranih nakon podjele/kategorizacije bolesnika s AKD-om šaka obzirom na rezultate mjerenih parametara. Prema tome, kao i prema rezultatima statističke analize, određene su specifične skupine.

Tako su prema intenzitetu PS-a svi bolesnici s AKD-om šaka podijeljeni u skupinu s niskim intenzitetom PS-a (PSS rezultati 0-13), te umjerenim do visokim intenzitetom PS-a (PSS rezultati $\geq$14).

Prema težini bolesti podijeljeni su u skupine vrlo blage i blage kliničke slike (HEES rezultat 1-5), umjerene kliničke slike (HEES rezultat 6-12) i teške kliničke slike (HEES rezultat $\geq$13).

Prema dermatološkoj kvaliteti života, podijeljeni su u skupine onih kod kojih AKD šaka nema utjecaja na kvalitetu života ili je on vrlo mali (DLQI rezultat 0-5), onih s umjerenim utjecajem (DLQI rezultat 6-10), te onih s velikim ili izrazito velikim utjecajem bolesti na dermatološku kvalitetu života (DLQI rezultat $\geq$11).

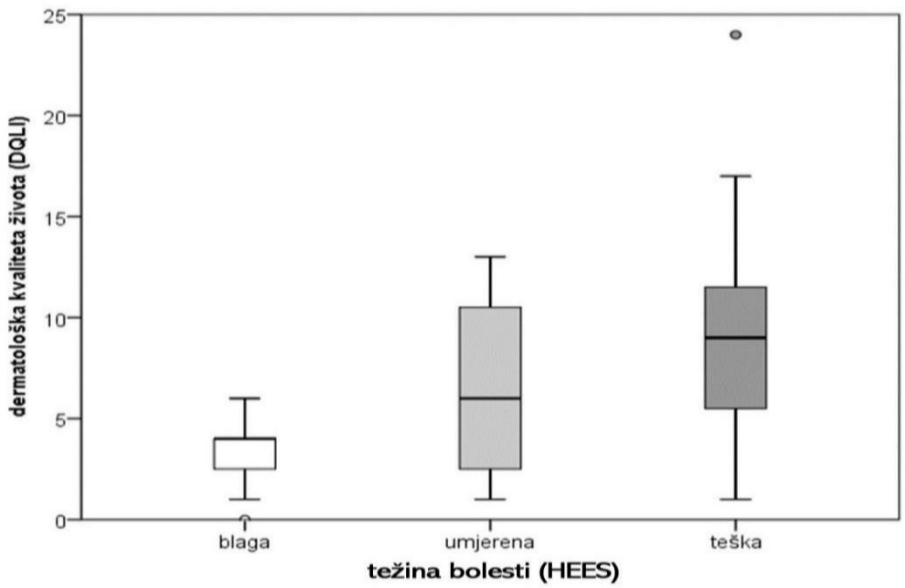
Niska razina kortizola u slini smatrala se onom nižom od 5,72 nmol/l (prema medijanu vrijednosti korištenog testa opisanog u metodologiji istraživanja, koji je iznosio 9,83 +/- 4,11 nmol/l, za razdoblje od 6 do 8 sati ujutro).

Nakon podjele bolesnika s AKD-om šaka prema težini kliničke slike, rezultati dobiveni usporedbom dobivenih skupina pokazuju kako se definirane skupine statistički značajno razlikuju u razinama jutarnjeg kortizola i utjecaju na dermatološku kvalitetu života (DLQI rezultat). Rezultat DLQI statistički se značajno razlikovao usporedbom skupina podijeljenih prema težini bolesti (p=0,003), a razlika je bila statistički značajna (p<0,001) samo prilikom usporedbe skupine s blagom (HEES rezultat 1-5) i skupine s teškom kliničkom slikom (HEES rezultat ≥13) (Tablica 10., Slika 10.). Tako je skupina bolesnika s višim HEES rezultatom imala i viši DLQI. Jutarnji kortizol u slini se razlikovao između kategorija težine bolesti (p=0,047), no višestruka usporedba po dvije kategorije nisu dosegnule razinu značajnosti (Tablica 10., Slika 11.).

**Tablica 10.** Usporedba kontinuiranih parametara između skupina obzirom na težinu bolesti na cijelom uzorku bolesnika s AKD-om šaka. Vrijednosti su označene kao medijan (IQR).

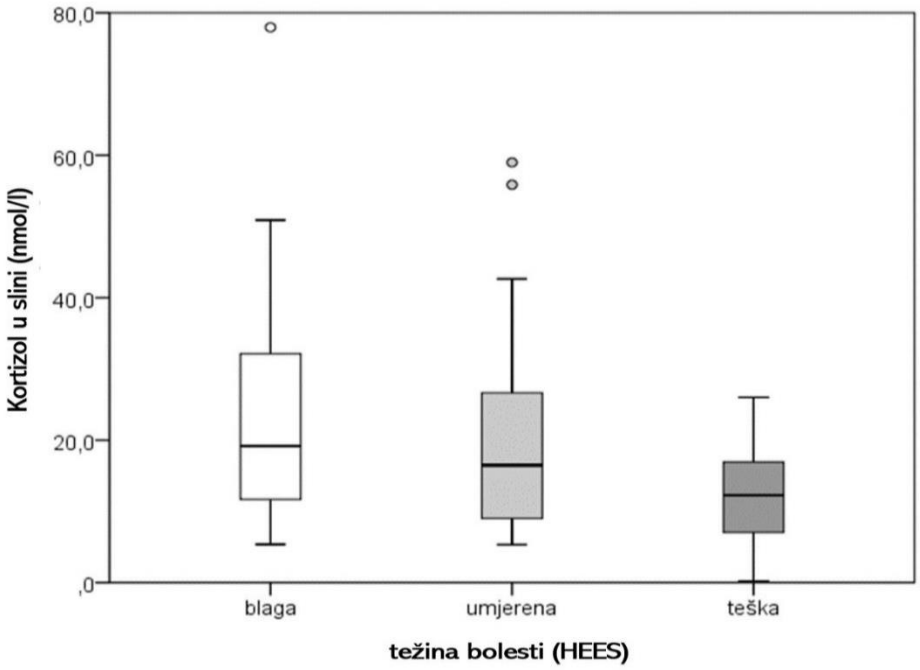
| varijabla | BLAGA | UMJERENA | TEŠKA | p | $\varepsilon^2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **IL-6 (pg/ml)** | 1,40 (1,40-1,70) | 1,40 (1,40-2,13) | 1,40 (1,40-2,00) | 0,721 | 0,011 |
| **TNF-α (pg/ml)** | 5,1 (5,0-7,0) | 6,9 (5,0-7,9) | 6,0 (5,1-7,0) | 0,508 | 0,023 |
| **Kortizol u slini** | 19,2 (8,7-37,3) | 16,5 (8,8-26,8) | 12,3 (6,7-17,0) | **0,047** | **0,105** |
| **PSS** | 19,0 (15,0-23,0) | 15,5 (12,3-22,8) | 18,5 (14,0-23,8) | 0,645 | 0,015 |
| **DLQI** | 4,0 (2,0-4,0) | 6,0 (2,3-11,3) | 9,0 (5,3-11,8) | **0,003** | **0,203** |
| **Duljina trajanja bolesti** | 2,0 (2,0-4,0) | 3,0 (2,0-5,0) | 3,0 (2,0-8,0) | 0,322 | 0,006 |

*IQR-interkvartilni raspon (25.-75. percentila)




**Slika 10.** Usporedba kvalitete života između skupina podijeljenih prema težini kliničke slike bolesnika s AKD-om šaka.

(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće vrijednosti)




**Slika 11.** Usporedba jutarnje razine kortizola u slini između skupina podijeljenih prema težini kliničke slike bolesnika s AKD-om šaka.

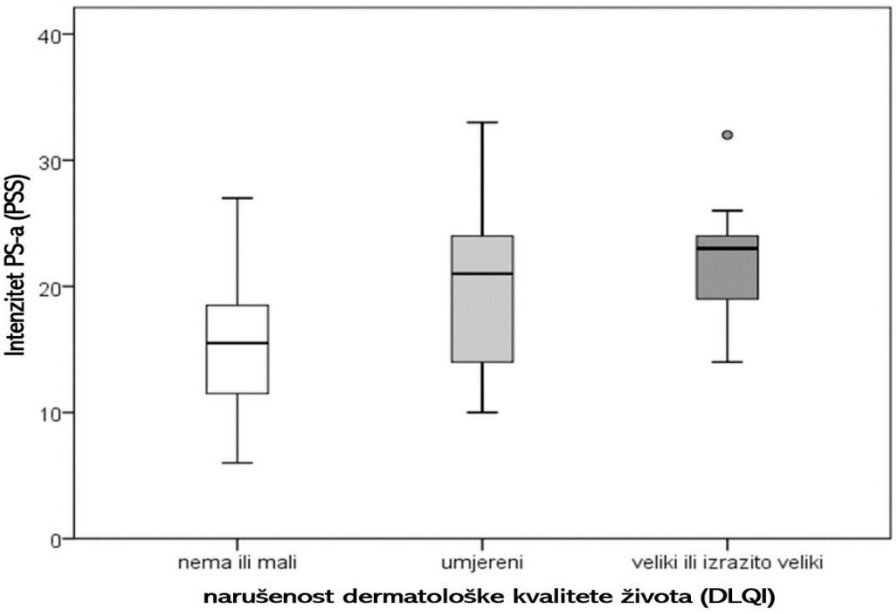
(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće vrijednosti)

Rezultati usporedbe skupina formiranih prema DLQI rezultatima (dermatološkoj kvaliteti života) svih bolesnika s AKD-om šaka pokazali su kako je viši DLQI rezultat bio povezana s višim PSS rezultatom (višim intenzitetom PS-a, p=0,009) i višim HEES rezultatom (težom kliničkom slikom, p=0,015) (Tablica 11., Slika 12. i 13.). Razlike su statistički značajne (p≤0,016) prilikom usporedbe PPS i DLQI rezultata između skupine bez ili s malom narušenosti dermatološke kvalitete života (DLQI rezultat 0-5) i skupine s velikom ili izrazito velikom narušenosti dermatološke kvalitete života (DLQI rezultat ≥11). Slične rezultate pokazala je statistička obrada i prije kategorizacije uzorka, Spearmanova korelacija parametara na cijelom uzorku bolesnika bez podjele prema skupinama (Tablica 7. i 8.).

**Tablica 11.** Usporedba kontinuiranih varijabli između skupina nakon kategorizacije prema dermatološkoj kvaliteti života u bolesnika s AKD-om šaka

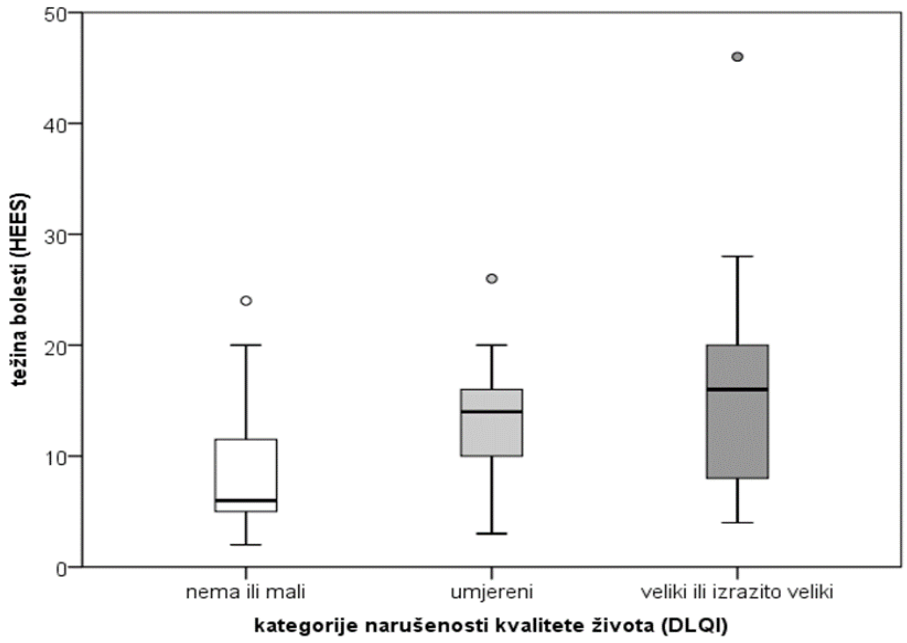
| varijabla | Bez ili mali utjecaj Medijan (IQR) | Umjereni utjecaj Medijan (IQR) | Veliki ili izrazito veliki utjecaj Medijan (IQR) | p | $\varepsilon^2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| **Duljina trajanja bolesti (godine)** | 3,0 (2,0-5,0) | 2,0 (2,0-5,3) | 4,0 (1,5-8,5) | 0,812 | 0,007 |
| **IL-6 (pg/ml)** | 1,40 (1,40-2,30) | 1,50 (1,40-1,93) | 1,40 (1,40-1,80) | 0,881 | 0,004 |
| **TNF-α (pg/ml)** | 6,3 (5,0-7,1) | 6,0 (5,0-7,6) | 6,0 (5,4-7,5) | 0,772 | 0,009 |
| **Kortizol u slini (nmol/l)** | 15,2 (6,6-26,0) | 16,5 (12,4-26,5) | 12,6 (7,6-19,8) | 0,124 | 0,072 |
| **PSS** | 15,5 (11,3-18,8) | 21,0 (13,8-24,0) | 23,0 (18,5-25,0) | **0,009** | **0,163** |
| **HEES** | 6,0 (5,0-11,8) | 14,0 (9,5-16,5) | 16,0 (7,5-20,5) | **0,015** | **0,146** |

*IQR-interkvartilni raspon (25.-75. percentila)




**Slika 12.** Usporedba intenziteta PS-a između skupina podijeljenih prema dermatološkoj kvaliteti života bolesnika s AKD-om šaka.

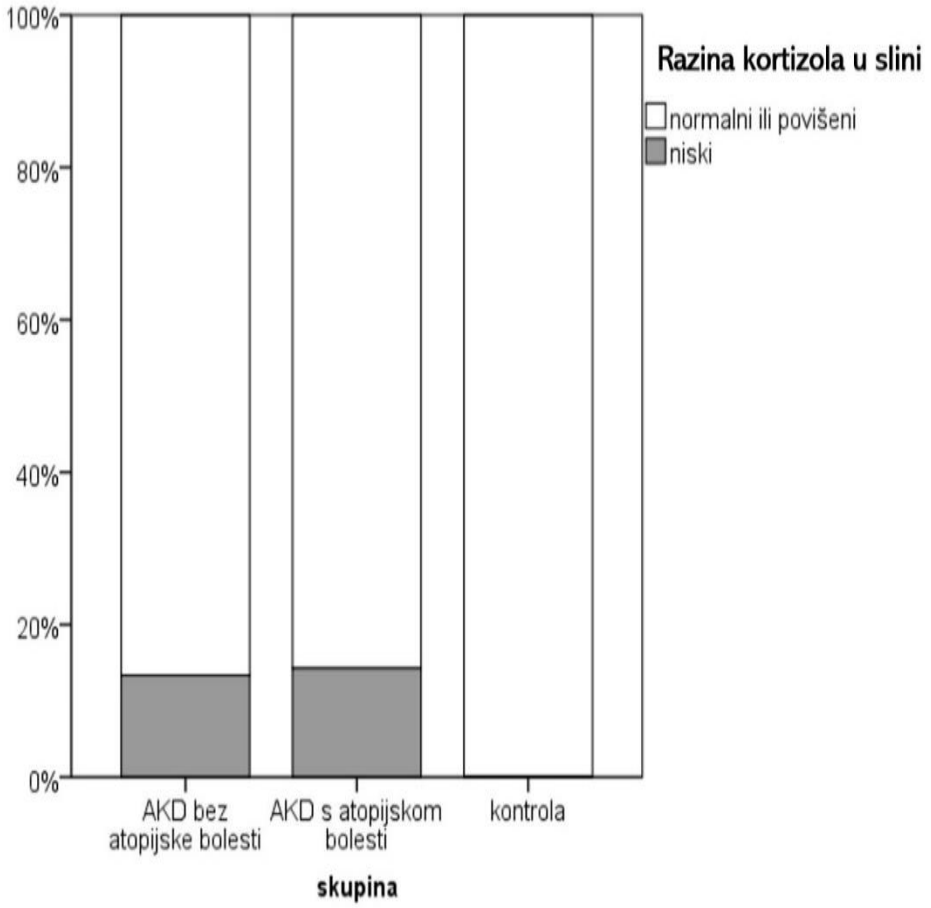
(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće vrijednosti)




**Slika 13.** Usporedba težine bolesti između skupina podijeljenih prema dermatološkoj kvaliteti života bolesnika s AKD-om šaka.

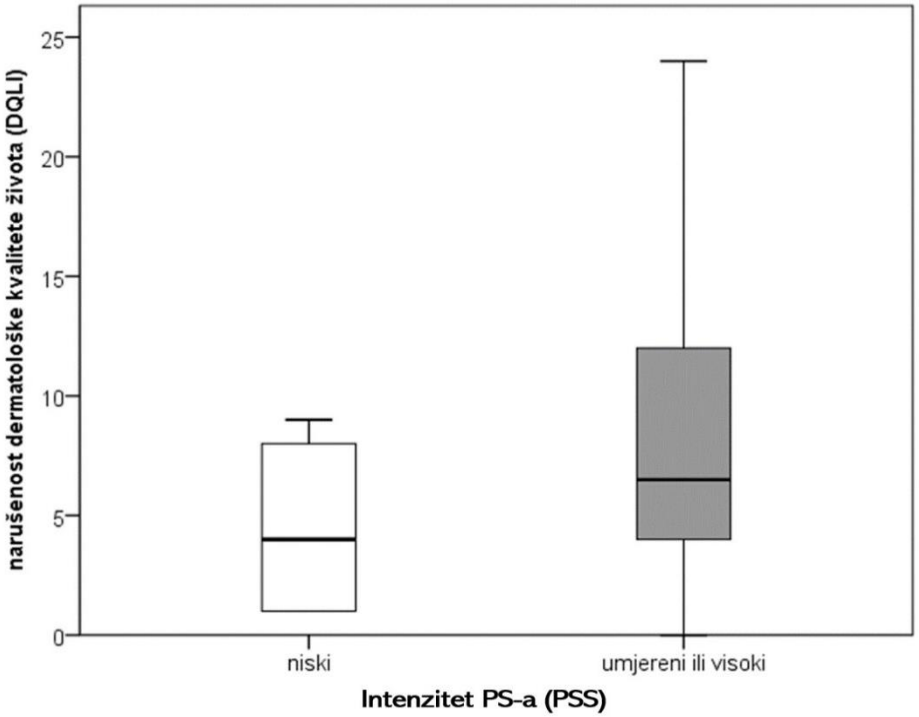
(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti, kružići stršeće vrijednosti)

Niski jutarnji kortizol u slini je utvrđen u 13,6% ispitanika s AKD-om šaka, a ni u jednog zdravog ispitanika (iako razlika između navedenih skupina nije bila statistički značajna) (Slika 14.). Učestalost niskog kortizola nije se značajno razlikovala između ispitanika s AKD-om šaka i pratećom atopijskom bolesti u odnosu na bolesnike s AKD-om šaka a bez atopije (13,3% i 14,3%).




**Slika 14.** Prikaz učestalosti (%) niske razine kortizola u slini u ispitivanih skupina

Statistička usporedba skupina bolesnika s AKD-om šaka podijeljenih prema intenzitetu PS-a pokazala je statistički značajno viši rezultat DLQI upitnika (znatno više narušena dermatološka kvaliteta života) u bolesnika s AKD-om šaka s umjerenim ili visokim intenzitetom PS-a (PSS rezultat 0-13) u odnosu na one s niskim intenzitetom PS-a (PSS rezultat ≥14) (p=0,021; r=-0,303) (Slika 15.). Nije bilo značajne razlike u dobi, razini IL-6 i TNF-α u serumu, razini kortizola u slini, rezultatu HEES-a ni duljini trajanja bolesti između bolesnika s niskim i onih s umjerenim ili visokim intenzitetom PS-a. Samo 4 ispitanika su imali visoki intenzitet PS-a pa su udruženi u kategoriju umjerenog PS-a.




**Slika 15.** Usporedba narušenosti kvalitete života bolesnika s AKD-om šaka između skupina odijeljenih prema intenzitetu PS-a.

(* dijagram s pravokutnikom prikazuje medijan, rubovi pravokutnika interkvartilni raspon, brkovi minimalne i maksimalne vrijednosti)

# 5. RASPRAVA

Prema našim spoznajama te prema podacima iz dostupne literature, ovo je prvo istraživanje koje je istovremeno analiziralo određene čimbenike iz svih područja PNI pristupa (psihčke, imunološke i endokrine) u bolesnika s AKD-om šaka. Kao što je prethodno opisano, postoje dokazi da PNI čimbenici imaju utjecaj na mnoge bolesti kože, te imaju značajan utjecaj na razvoj, kronicitet i terapijski odgovor kod dermatoloških bolesnika (38,109). Navedene spoznaje su bila osnova za istraživanje spomenutih čimbenika i u bolesnika s AKD-om šaka.

Kao psihoneuroendokrine komponentne PNI pristupa bolesnicima s AKD-om šaka ispitivane su vrijednosti kortizola (u slini), koji se smatra glavnim objektivnim biomarkerom PS-a i aktivnosti HHA osi, a uz to je primijenjen i PSS upitnik kao subjektivan pokazatelj intenziteta PS-a. Imunosni aspekti PNI pristupa uključivali su ispitivanje razina IL-6 i TNF-α u serumu. Pojedini ispitivani PNI čimbenici u našem istraživanju pokazali su značajan utjecaj na težinu bolesti i dermatološku kvalitetu života bolesnika s AKD-om šaka. Naši rezultati pokazuju da su oba analizirana čimbenika psihoneuroendokrine komponentne PNI pristupa (kortizol i PSS upitnik) značajno promijenjena u bolesnika s ADK-om šaka u odnosu na zdrave pojedince, što direktno pokazuje promijenjeno funkcioniranje HHA osi u tih bolesnika. Navedeno može biti iznimno važno u percepciji i pristupu ovim bolesnicima i njihovom liječenju.

Također, ovo istraživanje je i prvo takvo provedeno na ljudima, bez umjetne provokacije (senzibilizacije) AKD-a šaka te uključuje skupine bolesnika s raznovrsnim, spontano senzibiliziranim, pozitivnim reakcijama u epikutanom testiranju, ujedno i različitih težina bolesti u trenutku uključenja u istraživanje.

## 5.1. Usporedba razina IL-6 i TNF-α u serumu između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika

U znanstvenoj literaturi postoji veliki broj istraživanja koja ispituju razinu citokina na lokalnoj razini u koži bolesnika s AKD-om, na mjestu nastale kontaktne reakcije. Takvo istraživanje, specifičnije prirode, proveli su autori Goes HFO. i sur. U navedenom istraživanju autori su pokušali pokazati mehanizam pomoću kojeg specifični alergen (metilkloroizotiazolinon i metilizotiazolinon) inducira proizvodnju proupalnih i regulatornih čimbenika u koži (ekspresija proupalnih čimbenika procijenjena je q-PCR-om i imunokemijskom metodom na bioptatu kože na mjestu nastale reakcije nakon kontakta s navedenim alergenima) (53). Rezultati su pokazali pojačanu ekspresiju IL-6, FOXP3, IL-10 i TGF-β u koži zahvaćenoj AKD-om (53). Nadalje,

autori Curzytek K i sur. također su dokazali povećano lučenje citokina prilikom kontaktne reakcije preosjetljivosti u stimuliranoj keratinocitnoj HaCaT staničnoj liniji (kontaktna preosjetljivost izvedena je stimulacijom lipopolisaharidima i 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenom). Rezultati su pokazali povišene razine proupalnih čimbenika IL-1β, IL-6, CCL2 i CXCL8. Stimulacija HaCaT stanica kontaktnim alergenima bila je povezana s povećanom ekspresijom molekule stanične adhezije ICAM-1 i smanjenom ekspresijom E-kadherina. Dodatno su autori ispitivali utjecaj primjene antidepresiva na navedeno povećanje lučenja proupalnih citokina u kulturi HaCaT stanica te su pokazali kako antidepresivi imipramin, desipramin i fluoksetin potiskuju proizvodnju IL-1β, CCL2, kao i ekspresiju ICAM-1 (55).

U studiji autora Li W i sur., mastociti izolirani iz štakora s AKD-om, nakon izloženosti IL-37 citokinu, pokazali su smanjenje proizvodnje i izlučivanja IL-6 i TNF-α lokalno u koži (110). Kao inhibitor proupalnih citokina, IL-37 ublažava upalne odgovore kod različitih alergijskih bolesti, pa tako i kod AKD-a, što su autori Li W. i sur. pokazali u navedenom istraživanju (110). U ovoj studiji autori su procijenili imunomodulatorni učinak IL-37 na alergijsku upalu pomoću štakorskog modela AKD-a induciranog 2,4-dinitrofluorobenzenom. Sustavna primjena IL-37 značajno je ublažila edem kože uške, smanjila infiltraciju upalnih stanica, smanjila proizvodnju upalnih citokina TNF-α, IL-1β, IFN-γ i IL-13 i inhibirala regurgitaciju mastocita u koži uške miševa (110). Poznato je da među imunosnim stanicama uključenim u etiopatogenezu AKD-a, mastociti igraju bitnu ulogu, prvenstveno lučenjem proupalnih citokina kao što su, primjerice IL-6, TNF-α, IL-1 (1,5,7).

Uvidom u podatke iz dostupne literature, pronalazi se tek manji broj istraživanja koji ispituju razine IL-6 i TNF-α u serumu bolesnika s kontaktnom preosjetljivosti. Tako su autori Jia Q i sur. uspoređivali razine IL -1β, IL-6, IL-8 i TNF-α u serumu bolesnika s ranije poznatim AKD-om na trikloretilen u odnosu na ispitanike koje su jednokratno eksponirali trikloretilenom te neeksponirane ispitanike. Rezultati su pokazali više razine IL-1β, IL-6, IL-8 i TNF-α u serumu bolesnika s AKD-om u odnosu na ispitanike jednokratno izložene trikloretilenu i neeksponirane kontrolne ispitanike (66). Slične rezultate pokazalo je i istraživanje Akhtar N i sur. čiji su rezultati u 50 bolesnika s *airborne* AKD-om pokazali značajno više razine IL-6, TNF-α, IL-8, IL-17 u serumu u odnosu na kontrolne zdrave ispitanike, ali snižene vrijednosti IL-4 i IL-10 (67). Istraživanje provedeno na BALB/c miševima s AKD-om (izazvanim izlaganjem oksazolonu), autora Kimber I i sur., također je pokazalo više razine IL-6 u serumu nakon izlaganja alergenu, u odnosu na zdrave miševe (68). Broj ovakvih istraživanja na ovoj skupini

bolesnika je jako malen, dok se studije koje pokazuju snižene ili fiziološke razine citokina u serumu bolesnika s AKD-om u literaturi ne pronalaze.

Ipak, u bolesnika s AKD-om šaka u našem istraživanju, razine citokina IL-6 i TNF-α u serumu nisu se značajno razlikovale u usporedbi sa zdravim ispitanicima (Tablica 6., Slike 5. i 6.). Unatoč prethodno navedenim rezultatima, koji ukazuju na izostanak povišenja navedenih citokina u serumu bolesnika s AKD-om šaka, navedeno ne znači ujedno izostanak povišenja istih na lokalnoj razini u koži. U literaturi postoji veći broj istraživanja koji pokazuju povišenje navedenih citokina isključivo na lokalnoj razini u koži, ali ne ispituju njihove vrijednosti u serumu (53–59). Obzirom na naše rezultate moguće je da se značajna povišenost proupalnih citokina, koji su ključni za reakcije kontaktne preosjetljivosti, ipak zadržava samo na lokalnoj razini na mjestu kontakta kože s alergenom, posebice u kroničnoj bolesti. Prema navedenom ne isključuje se izraženost upalne reakcije na mjestu kontakta lokalno u koži, što nije direktno ispitivano u našem istraživanju.

Moguće je da se u prethodno navedenim malobrojnim istraživanjima, a koja su pokazala povišene razine spomenutih citokina u serumu bolesnika s AKD-om, zapravo radi o povišenju u akutnom smislu, vrlo rano pri nastanku kliničke slike, obzirom da su razine citokina u serumu kod pojedinih ispitanika mjerene vrlo brzo nakon nastanka kontaktne reakcije preosjetljivosti (66–68). Tada bismo eventualno mogli očekivati kratkotrajno povišenje citokina i u serumu. Međutim, prema etiopatogenezi AKD-a, u uspostavi reakcije preosjetljivosti i ponovnim kroničnim izlaganjima alergenu (kao što je bio slučaj s našim bolesnicima čija je bolest trajala većinom duže od godinu dana), imunosni sustav lokalizira/ograničava upalu samo na mjesta kontaktna kože s alergenom, i zapravo se ne radi o kroničnoj sustavnoj upalnoj reakciji. Moguće je i da povišena razina proupalnih citokina u serumu ovisi i o postotku površine kože koja je zahvaćena lezijama AKD-a (opsežnosti kliničke slike i upalnog procesa), a u naših bolesnika s AKD-om šaka radilo se isključivo o lokalizaciji promjena na koži šaka i vrlo maloj površini u odnosu na kožu cijelog tijela.

Nadalje, važno je napomenuti kako su karakteristike trikloretilenom induciranog kontaktnog dermatitisa vrlo slične onima kod teške multisistemske reakcije preosjetljivosti na lijek s eozinofilijom i sistemskim simptomima (*Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms* (DRESS)) (111,112), uz veću zahvaćenost površine kože promjenama. Navedeno se odnosi na prethodno opisanu studiju autora Jia i sur. koja je pokazala povišene razine citokina IL-1β, IL-6, IL-8 i TNF-α u serumu bolesnika s AKD-om na trikloretilen (66)). Zbog navedenog

potencijalno je moguć porast mjerenih citokina u serumu, kao znak sustavne upalne reakcije. Nadalje, također u prethodno spomenutoj studiji autora Akhtar i sur. ispitivana je razina citokina u serumu bolesnika s *airborne* AKD-om na *Parthenium hysterophorus* gdje često dolazi do intenzivne zahvaćenosti površine kože koja je izložena zraku (nepokrivena odjećom). Navedeni oblik AKD-a prvenstveno se viđa u bolesnika u regijama Indije i Australije, i to u toplim razdobljima godine (67). *Parthenium hysterophorus* spada u skupinu trava čije se komponente raspršuju zrakom, a sastoje se od inhalacijskih, kontaktnih, fotoaktivnih alergena te mogu manifestirati i izazvati različite i opsežne kliničke značajke, što objašnjava potencijalnu pojavu sustavnog upalnog odgovora s povišenim razinama citokina u serumu. Nadalje, iako je u studiji autora Kimber i sur. (68) dokazana povišena razina citokina u serumu u AKD-a, prvenstveno se radi o studiji provedenoj na miševima dok se istovjetna studija na ljudskoj populaciji u literaturi ne pronalazi. Također u navedenoj studiji citokini u serumu analizirani su u akutnom stanju bolesti, brzo nakon umjetno izazvanog AKD-a.

Gledajući važnost IL-6 i TNF-α u bolesnika, značajne su njihove razine i u bolesnika s psihičkim poremećajima i visokim intenzitetom PS-a. Prema meta-analizi autora Dowlati Y i sur. pokazano je kako se u bolesnika s kliničkom depresijom, uočavaju značajno veće koncentracije TNF-α i IL-6 (40). Također su autori Karlović D i sur. pokazali da hospitalizirani bolesnici s depresijom u odnosu na zdrave pojedince imaju više razine C reaktivnog proteina i IL-6, ali ne i TNF-α, a uočena je i pozitivna korelacija između težine simptoma depresije, IL-6 i kortizola u serumu u skupini bolesnika s depresijom s melankoličnim obilježjem. Koncentracije IL-6, TNF-α i kortizola u serumu u navedenom istraživanju izmjereni su ujutro, 30 minuta nakon buđenja i drugi dan nakon hospitalizacije (76). Akutni PS zbog aktivacije HHA osi i akutno povišenih vrijednosti kortizola može sniziti vrijednosti IL-6 i TNF-α, dok, s druge strane, produljeni kronični PS uzrokuje poremećaj ravnoteže HHA osi te su zbog nastale kortizolne rezistencije paradoksalno povišene razine IL-6 i TNF-α (74). Također, povišene razine TNF-α i IL-6 mogu biti povezane s depresijom (pogoršavaju i šire neuroupalni proces, oštećujući moždane funkcije itd.) (75). Naime, literatura pokazuje kako postoji pozitivna korelacija težine simptoma depresije, koncentracije IL-6 i kortizola u bolesnika s velikom depresivnom epizodom (76).

Ipak, prema rezultatima našeg istraživanja, u bolesnika s AKD-om šaka, nije postojala statistički značajna povezanost viših razina citokina (IL-6 i TNF-α) s težinom bolesti, višim intenzitetom PS-a ili narušenosti dermatološke kvalitete života, unatoč tome što su bolesnici s AKD-om šaka imali značajno viši intenzitet PS-a u odnosu na zdrave ispitanike. S obzirom da

nije postojala ni značajna razlika u razinama IL-6 i TNF-α u serumu bolesnika s AKD-om šaka u odnosu na zdrave pojedince, možemo zaključiti da nije postojala niti značajna upalna reakcija na sustavnoj razini koja bi eventualno mogla dodatno utjecati na funkciju HHA osi. Također medijan PSS rezultata u našem istraživanju u bolesnika s AKD-o šaka iznosio je 17 što ipak označava umjeren, ali ne i visoki intenzitet PS-a. Nadalje, iako su razine jutarnjeg kortizola u slini u bolesnika s AKD-om šaka u našem istraživanju bile značajno niže od zdravih ispitanika, medijan koncentracije iznosio je 14,94 nmol/l što pripada gornjoj granici referentnih vrijednosti razina kortizola u slini za ispitivano razdoblje. Dakle, iako je pokazano kako bolesnici s AKD-om šaka imaju lošiji cirkadijani odgovor jutarnjeg kortizola on se ipak nalazi u fiziološki referentnim granicama te ne označava potpunu disfunkciju HHA osi. S obzirom na navedeno moguće je da bolesnici s AKD-om šaka u našem istraživanju nisu imali dovoljno veliki intenzitet kroničnog PS-a koji bi utjecao na razine IL6 i TNF-α u serumu.

### 5.2. Usporedba razine jutarnjeg kortizola u slini između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika te povezanosti intenziteta psihičkog stresa i razina jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na težinu kliničke slike i duljinu trajanja bolesti bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka

Poremećena regulacija HHA osi kod kronične izloženosti PS-u manifestira se smanjenom fluktuacijom proizvodnje kortizola, a kronično povišene vrijednosti kortizola mijenjaju imunosnu ravnotežu prema intenziviranju Th2 i Tc odgovora (38,73,113). Iako kronični PS povećava ukupne dnevne vrijednosti kortizola, zbog poremećaja ravnoteže HHA osi gubi se fiziološko povećanje koncentracije na akutni PS i mijenja se cirkadijani ritam. Istraživanje koje su proveli autori Yang Y i sur. također je uspoređivalo intenzitet PS-a (PSS upitnikom) i razine jutarnjeg kortizola u slini medicinskih tehničara u hitnoj medicini u odnosu na one u službi obiteljske medicine. Rezultati su pokazali kako medicinski tehničari u hitnoj medicini imaju viši PSS, i značajno niže vrijednosti jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na one u obiteljskoj medicini koje su korelirale s višim PSS-om (100). U studiji autora Hall JM i sur. ženke BALB/c miševa izlagane su kroničnom PS-u (pomoću izravne ventilacije u horizontalnoj poziciji) 2 sata dnevno tijekom 30 dana, a zatim je 25. dan izlaganja PS-u provedena senzibilizacija oksazolonom na koži abdomena te su 5 dana nakon toga ponovno izložene oksazolonu na koži uški (114). Autori su 0. i 20. dan izlaganja PS-u proveli analizu serumskih razina kortikosterona. Rezultati istraživanja pokazuju kako miševi izloženi kroničnom PS-u (u trajanju od čak 30 dana) imaju više ukupne razine kortikosterona u serumu (114). Navedeno je u skladu sa

spoznajom da u kroničnom stresu dolazi do porasta sveukupne koncentracije kortizola u organizmu, ali zbog pretjeranih zahtjeva organizma i potrebe da se održi ravnoteža, jutarnji skok vrijednosti kortizola izostaje (38).

U dosadašnjoj literaturi ne pronalazi se istraživanje u bolesnika s kontaktnim dermatitisom koje prati razine kortizola u slini, ali su istraživane u bolesnika s atopijskim dermatitisom. S obzirom na to vodili smo se istraživanjem autora Kojima R i sur. koji su, u 38 djece s atopijskim dermatitisom, ispitali razinu jutarnjeg kortizola u slini (87). Kortizol u slini mjeren je prije i nakon uzimanja uzoraka seruma venepunkcijom, a autori su pokazali da porast razine kortizola u slini na akutni PS negativno korelirala s težinom atopijskog dermatitisa, te da je težina bolesti atopijskog dermatitisa povezana s disfunkcijom HHA osi (87). Slično istraživanje na bolesnicima s atopijskim dermatitisom proveli su i autori Rajcani J i sur. koji su dobili podjednake rezultate ukazujući na snižene vrijednost jutarnjeg kortizola u slini bolesnika u odnosu na zdrave pojedince (115). Nadalje, istraživanje autora Meštrović-Štefekov i sur. pokazalo je kako bolesnici s teškim atopijskim dermatitisom imaju značajno niže razine kortizola od onih s umjerenim i blagim oblikom bolesti (116). Unatoč značajno različitom patofiziološkom mehanizmu razvoja atopijskog dermatitisa u odnosu na AKD, slične rezultate pokazalo je i naše istraživanje (Tablica 6.). Jutarnji kortizol u slini u bolesnika s AKD-om šaka u našem istraživanju bio je statistički značajno niži, a intenzitet PS-a statistički značajno viši u odnosu na zdrave ispitanike ($p \leq 0,001$; Tablica 6., Slike 7. i 8.), iako nije bilo značajne korelacije između kortizola u slini i intenziteta PS-a. U statističkoj obradi jačina učinka bila je izraženija za razliku u intenzitetu PS-a nego za razliku u razinama jutarnjeg kortizola u slini ($r=0,425$ i $r=0,392$) usporedbom bolesnika s AKD-om šaka i zdravih pojedinaca. Značajno je također kako je niski jutarnji kortizol u slini (prema referentnim vrijednostima ranije navedenim u metodologiji disertacije) imalo 13,6% ispitanika s AKD-om šaka, a niti jedan zdravi ispitanik u našem istraživanju. Također medijan PSS rezultata u našem istraživanju u bolesnika s AKD-o šaka iznosio je 17 što označava umjerene vrijednosti. Nadalje, medijan koncentracije jutarnjeg kortizola u slini u bolesnika s AKD-om šaka iznosio je 14,94 nmol/l što pripada gornjoj granici referentnih vrijednosti razina kortizola u slini za ispitivano razdoblje. Nakon usporedbe skupina bolesnika s AKD-om šaka kategoriziranih prema težini bolesti, utvrđeno je kako je teža klinička slika AKD-a šaka bila povezana s nižim razinama kortizola u slini ($p=0,047$) (Tablica 10., Slika 11.). Navedeno je sukladno literaturnim podacima za atopijski dermatitis.

Obzirom da se u našem istraživanju radi o bolesnicima s dugotrajnim, tj. kroničnim AKD-om šaka, oni su potencijalno izloženi kroničnom PS-u zbog dugotrajnog prisustava bolesti, koji

dokazano utječe na kvalitetu fiziološkog odgovora kortizola i mijenja ravnotežu HHA osi. Rezultati PSS upitnika u naših bolesnika potvrđuju postojanje kroničnog PS-a, obzirom da taj upitnik ispituje subjektivan doživljaj PS-a tijekom prethodnih mjesec dana. Na navedeni veći intenzitet PS-a, potencijalno može utjecati kronicitet AKD-a, kao i težina same bolesti, iako treba uzeti u obzir i preostale životne čimbenike i osobnost bolesnika. Važno je ipak istaknuti kako unatoč tome što su vrijednosti jutarnjeg kortizola u slini naših bolesnika s AKD-om šaka bile niže od zdravih ispitanika, te razine su ipak bile fiziološke, tj. u referentnim intervalima za razdoblje mjerenja. Dakle, iako je pokazano kako bolesnici s AKD-om šaka imaju lošiji cirkadijani odgovor jutarnjeg kortizola on se ipak nalazi u fiziološki referentnim granicama te ne označava potpunu disfunkciju HHA osi.

Kao i u prethodno spomenutoj studiji autora Jia Q i sur. (66), niti u našim rezultatima nije utvrđena značajna korelaciju između mjerenih parametara i trajanja bolesti u bolesnika s AKD-om šaka. Ipak, slabiji odgovor jutarnjih razina kortizola u slini, indirektno upozorava na postojanje kronično visokih ukupnih koncentracija kortizola. Navedeno može imati loše implikacije na težinu AKD-a (ranije spomenuti poremećaj imunosnog sustava prema intenziviranju Tc odgovora) i na lošiji terapijski odgovor, a samim time potencijalni kronicitet bolesti.

Gledajući korelaciju razina kortizola u slini s razinama u serumu, u našem istraživanju povezanost koncentracije jutarnjeg kortizola u slini u odnosu na jutarnji kortizol iz seruma bila je umjerena, linearna i pozitivna ($r=0,471$; $p=0,004$; Slika 9.) te dob i spol nisu utjecali na navedeni odnos. U fiziološkim uvjetima, kortizol u slini snažno korelira s kortizolom u serumu. Navedeno su pokazali i autori Debono M i sur. u istraživanju na 14 muških dobrovoljaca kojima je tijekom 3 razdoblja (fiziološki ritam kortizola, te nakon primjene 20 mg oralnog i intravenskog hidrokortizona) izmjeren kortizol u serumu i slini, a razina kortizola u slini je značajno korelirala u sva tri slučaja s razinom iz seruma (117). Slične rezultate pokazala je i studija autora Umeda T i sur. gdje je koeficijent korelacije (r) između razina jutarnjeg kortizola u slini i nevezanog kortizola u serumu iznosio je 0,893 što upućuje na dobru povezanost (118). Zanimljivo je kako je u dosadašnjim istraživanjima pokazana značajna korelacija bazalne ukupne razine kortizola u serumu i razine slobodnog kortizola u slini čak i u bolesnika s paničnim poremećajem, pri čemu je bila istovjetna onima u zdravih pojedinaca (119). Prema rezultatima, jutarnji kortizol u slini vjerodostojni je biomarker stresa te je, za razliku od venepunkcije, uzimanje takvog uzorka neinvazivno i vrlo praktično za ispitanika i istraživača što potencijalno otvara mogućnost njegovog korištenja i u dijagnostičke svrhe u budućnosti.

### 5.3. Intenzitet psihičkog stresa između bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka i zdravih ispitanika te utjecaj na dermatološku kvalitetu života bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka

Kronični AKD šaka utječe na fizičke, materijalne, društvene i psihološke aspekte života osobe, te time narušava zdravstvene kvalitete života. Psihički učinci AKD-a mogu po intenzitetu biti slični onima kod atopijskog dermatitisa, psorijaze i astme. Pojedinci s AKD-om šaka mogu razviti depresiju, poremećaje raspoloženja, nisko samopoštovanje, zabrinutost i poremećen san (81).

Rezultati našeg istraživanja pokazali su statistički značajnu razliku u intenzitetu PS-a između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih kontrola, točnije u rezultatima PSS-a ($p \leq 0{,}001$; Tablica 6.). Navedeno je sukladno dosadašnjim spoznajama. Primjerice, cilj istraživanja autora Janardhanan AK i sur. bio je procijeniti kliničko-etiološke čimbenike u osoba s ekcemom šaka, pronaći korelacije između morfoloških tipova i etioloških čimbenika te utvrditi uloge razine PS-a u ovih bolesnika (81). U ovu deskriptivnu studiju uključeni su bolesnici s ekcemom šaka (uključeni su svi bolesnici s klinički prisutnim ekcemom šaka, nevezano za prisutnost kontaktne preosjetljivosti) kojima su uzeti sociodemografski i kliničko-etiološki podaci te je učinjeno epikutano testiranje svih bolesnika. Razine PS-a procijenjene su PSS-om. Među 62 ispitanika, AKD je prevladavao u 59,7% slučajeva. Značajno povišen intenzitet PS-a uočene su u 67,7% ispitanika, 51,6% pokazivali su visoki intenzitet PS-a, a 16,1% vrlo visok PS. Ipak autori ne definiraju razlike u intenzitetu PS-a obzirom na definirane skupine unutar bolesnika s ekcemom šaka, primjerice je li PS viši u onih s AKD-om u odnosu na ostale bolesnike (81). S obzirom da je velik dio bolesnika s ekcemom šaka imao visoku razinu PS-a, autori zaključuju da upravljanje izloženosti i nošenje s PS-om također treba biti dio liječenja ovih bolesnika. Nadalje, rezultati istraživanja provedenom na miševima, autora Kitagaki H i sur., pokazuju da kronični AKD dramatično utječe na bihevioralne i fiziološke odgovore na PS tijekom socijalne izolacije (psihički stresor) (82). U mužjaka BALB/c miševa, psihički stresor (socijalna izolacija) je u kombinaciji s dugotrajnom (>2 mjeseca) ponavljanom primjenom alergena izazvala karakteristične simptome, uključujući kronični dermatitis, promjene ponašanja povezane sa strahom/tjeskobom. Simptomi su se održali i nakon prestanka trajanja socijalne izolacije i uklanjana alergena, a poboljšali su se i regredirali resocijalizacijom. Istraživanje pokazuje da kronični PS dovodi do intenziviranja kontaktne reakcije preosjetljivosti, a čak i u slučaju uklanjanja alergena, ukoliko PS perzistira, kontaktna preosjetljivost se održava (82).

Oboljeli od AKD-a navode svrbež i perzistiranje promjena kože kao simptome koji ih najviše smetaju (97). Subjektivan osjećaj svrbeža i pojava ragada na koži mogu remetiti ciklus spavanja, izazivati bol i nelagodu te smanjenu funkciju šaka (1,97). Emocionalni čimbenici i kronična izloženost PS-u često mogu, složenim PNI procesima i mehanizmima, pogoršati svrbež i grebanje te dodatno narušavati kvalitetu života bolesnika (1,38).

Percepcija ozbiljnih posljedica, veće opterećenje simptomima i veća nesigurnost i zabrinutost zbog bolesti bili su povezani s nižom dermatološkom kvalitetom života (ispitivana DLQI upitnikom) u istraživanju autora Benyamini Y. i sur., provedenom na 103 bolesnika s atopijskim dermatitsom, kontaktnim dermatitisom (bolesnici s IKD-om i AKD-om), profesionalnim kontaktnim dermatitisom te s drugim bolestima kože (asteatotski dermatitis, *granuloma annulare*, *rosacea*, seboroični dermatitis, *lichen sclerosus et atrophicus* i psorijaza) (120). Prema tim rezultatima, bolesnici su naveli i nisku osobnu kontrolu svojeg stanja i slabo razumijevanje bolesti. Dermatološka kvaliteta života najviše je bila narušena u bolesnika s profesionalnim kontaktnim dermatitisom (120). Nadalje, u presječnoj studiji autora Kalboussi H i sur. u kojoj je isključivo ispitana kvaliteta života u bolesnika s AKD-om, koristeći DLQI upitnik, prosječni rezultat DLQI bio je 6,5. Pritom je viši DLQI rezultat bio značajno povezan s pratećom atopijom, ukupnim gubitkom radne produktivnosti i negativnim utjecajem na dnevne aktivnosti (121). Pretežno su svrbež, nelagoda i poteškoće u svakodnevnim aktivnostima najčešće snažno povezani s lošijom kvalitetom života (122).

Zanimljiva je usporedba bolesnika s profesionalnim AKD-om šaka iz velikih gradova s onima iz manjih sredina pokazala da je učestalost/vjerojatnost prijave težine bolesti kao umjerene do izrazito teške bila značajno niža u gradskoj populaciji nego u populaciji manjih sredina, dok je niska kvaliteta života bila češća u gradskoj populaciji nego u onih u manjim sredinama, unatoč lakšoj kliničkoj slici (123). Nadalje, autori Kouris A. i sur. su u svojem istraživanju na 71 bolesniku s kroničnim AKD-om šaka koristili DLQI za procjenu kvalitete života, a za procjenu anksioznosti i depresije Bolničku ljestvicu anksioznosti i depresije (*Hospital Anxiety and Depression Scale*, HADS), kao i Leytonovu ljestvicu osobina za procjenu kompulzivnog ponašanja. Prosječni DLQI rezultat u istraživanju navedenih autora iznosio je 11,11 ± 1,81.. Gledajući njihove rezultate svih korištenih upitnika, bolesnici s AKD-om šaka imali su statistički značajno više rezultate u odnosu na zdrave ispitanike, što govori u prilog lošijoj kvaliteti života, izraženijoj anksioznosti i depresiji te učestalijim kompulzivnim ponašanjem u tih bolesnika (124).

Prosječan rezultat DLQI u našem istraživanju iznosio je 6,9 (medijan 6,0 (raspon 3,0-10,0)), što ukazuje na prosječno umjeren utjecaj AKD-a šaka na kvalitetu života, a isto je sukladno s podacima iz dosadašnje literature. Prema statističkoj obradi rezultata u našem istraživanju pokazano je kako porast težine kliničke slike (HEES rezultat) i porast intenziteta PS-a utječu na veću narušenost dermatološke kvalitete života (DLQI rezultat) (Tablica 7.). Rezultati (multiple linearne regresijske analize) su također pokazali kako su težina kliničke slike i intenzitet PS-a jedini značajni prediktori narušenosti dermatološke kvalitete života, pri čemu samostalni doprinos intenziteta PS-a više pridonosi narušavanju kvalitete života (25%), nego doprinos težine kliničke slike (17%) (Tablica 8.). Navedeni rezultati potvrđeni su i nakon usporedbe skupina bolesnika s AKD-om šaka podijeljenih prema utjecaju na dermatološku kvalitetu života (DLQI rezultatu). Prema navedenom, lošija kvaliteta života bolesnika bila je povezana s višim intenzitetom PS-a (PSS rezultat) i težom kliničkom slikom bolesnika s AKD-om šaka (HEES rezultati) (Tablica 11.). Statistički značajne razlike uočene su između skupina s najmanjim i najvećim utjecajem na dermatološku kvalitetu života i to tako da je skupina bolesnika s većim utjecajem na kvalitetu života imala i viši intenzitet PS-a i težu kliniku sliku bolesti.

Težina kliničke slike AKD-a može uvelike varirati od blage i prolazne upale sa svrbežom i crvenilom do teškog dugotrajnog eksudativnog dermatitisa. Čimbenici koji utječu na težinu AKD-a uključuju prvenstveno prirodu alergena (u rasponu od jakih do slabih senzibilizatora) te njihovu koncentraciju i uvjete izloženosti (12). Iako je sposobnost alergena da izazove AKD povezana s njegovom antigenošću, njegovo intrinzično proupalno svojstvo bitno je za učinkovitost nastanka alergen-specifičnih Tc limfocita (125). Više od 40 godina poznato je da iritacija/upala kože može promovirati i pogoršati AKD. Eksperimentalne studije na modelima miševa, kao i u ljudi, pokazale su da istodobna primjena iritansa s alergenima može značajno doprinijeti razvoju i pogoršanju kliničke slike AKD-a (126,127).

Medijan težine bolesti u naših bolesnika s AKD-om šaka iznosio je 10 bodova u HEES skali, što svrstava naše bolesnike u skupinu s umjerenom težinom bolesti. Nadalje, težina bolesti AKD-a, prema rezultatima našeg istraživanja (Tablica 7. i 11.), značajno utječe na dermatološku kvalitetu života, što je sukladno s rezultatima do sada dostupne literature. Težina bolesti osobito ovisi o postojanosti i proširenosti promjena na koži. Iako u našem istraživanju nije direktno ispitivana prisutnost simptoma svrbeža, ragada, lihenifikacije i disfunkcije šaka, očekivano je da veća zahvaćenost kože promjenama može negativno utjecati na njenu funkciju te povećati rizik za pojavu izraženijih simptoma (poput svrbeža i pojave ragada), što sve

doprinosi narušavanju kvalitete života bolesnika. Također, bolesnici s AKD-om šaka u našem istraživanju imali su kronični tijek bolesti, što je samo po sebi uključivalo prisutnost promjena kože kao što su lihenifikacija, ragade i fisure. Pritom je važno napomenuti da HEES upitnik, koji je korišten u ovom istraživanju, ispituje isključivo kvantitativnu postojanost promjena kože (uz postotak zahvaćenosti površine kože) bez kvalitativnog opisa morfologije ili ispitivanja subjektivnih simptoma. Narušavanju kvalitete života bolesnika s AKD-om šaka dodatno doprinosi lokalizacija promjena kože na šakama, što potencijalno može značajnije narušiti svakodnevno funkcioniranje i obavljanje finih radnji.

Nadalje, zanimljivo je da je veći intenzitet PS-a u bolesnika s AKD-om šaka u našem istraživanju imao značajniji negativan utjecaj na kvalitetu života od same težine bolesti. Slične rezultate pokazali su i autori Nørreslet LB i sur., gdje je populacija bolesnika u većim gradovima imala lošiju dermatološku kvalitetu života od bolesnika iz manjih sredina, iako su imali lakšu kliničku sliku (123). Tako je intenzitet PS-a uslijed stanovanja u velikim sredinama imao veći utjecaj na doživljenu narušenost dermatološke kvalitete života od stvarne težine same bolesti. U skladu s tim, statistička obrada naših podataka nakon kategorizacije uzorka prema intenzitetu PS-a, također je pokazala da je kvaliteta života bila znatnije narušena u osoba s umjerenim ili visokim intenzitetom PS-a, nego u onih s niskim PS-om, što je i očekivano (Slika 15.). Sama težina AKD-a šaka utječe na intenzitet PS-a. Međutim, kod procjene čimbenika koji utječu na subjektivan intenzitet PS-a potrebno je uzeti u obzir i druge svakodnevne prilike i životne situacije te način nošenja osobe s PS-om. Prema navedenom, moguće je da percepcija narušenosti kvalitete života ovisi i o drugim čimbenicima, primjerice osobnosti bolesnika i slično (128). Percepcija bolesti i način reagiranja na izloženost PS-u ovise i o subjektivnim obilježjima/osobnosti bolesnika pa tako dvije osobe s potpuno istim simptomima bolesti mogu procijeniti svoju kvalitetu života različito, unatoč primjerice jednakoj težini kliničke slike (98).

### 5.4. Razlike u razinama jutarnjeg kortizola u slini, IL-6 i TNF-α u serumu, intenziteta psihičkog stresa i kvalitete života u bolesnika s alergijskim kontaktnim dermatitisom šaka s pratećom atopijskom bolesti u odnosu na one bolesnike bez prateće atopijske bolesti

U rezultatima našeg istraživanja nije bilo značajnih razlika između ispitanika s AKD-om šaka s pratećom atopijskom bolesti i onih bez prateće bolesti niti u jednom ispitivanom parametru (Tablica 9.). Unatoč tome, oni s pratećom atopijskom bolesti u našem istraživanju imali su tendenciju nešto viših razina IL-6 u serumu, niži jutarnji kortizol u slini, viši intenzitet PS-a i

veći utjecaj bolesti na dermatološku kvalitetu života te nešto lakšu kliničku sliku, iako bez statističke značajnosti (Tablica 9.). U našem istraživanju od 30 bolesnika s AKD-om šaka i pratećom atopijskom bolesti, njih 14 imalo je i ekstrinzični atopijski dermatitis, a svi bolesnici s AKD-om šaka i atopijskim dermatitisom imali su ujedno pozitivan IgE na neki od inhalacijskih alergena (anamnestički od ranije prisutnim alergijskim rinokonjunktivitisom). Od preostalih 16 ispitanika u skupini bolesnika s AKD-om šaka s atopijskim bolestima (a koji nisu imali atopijski dermatitis), svi su imali pozitivan IgE na neki od inhalacijskih alergena te anamnestički od ranije dijagnosticiran alergijski rinokonjunktivitis, dok su samo dva ispitanika imala alergijsku astmu.

Gledajući povezanost AKD-a i atopije, dosadašnja istraživanja ukazuju na kontroverzan utjecaj atopije na razvoj i tijek kontaktne reakcije preosjetljivosti. Postoje studije koje nisu pronašle nikakvu vezu između atopije i AKD-a (54,129–131), dok druge ukazuju na atopiju kao prediktor loše prognoze (132,133). U presječnoj studiji autora Kalboussi H i sur. koja je isključivo ispitala kvalitetu života kod bolesnika s AKD-om, prosječni rezultat DLQI bio je pozitivno značajno povezan s atopijom (121). Nadalje, autori Chai W i sur. ispitivali su koncentracije imunoglobulina, komplementa C3, C4, citokina u serumu, u bolesnika s dijagnozom alergijskog rinonkonjunktivitisa i/ili AKD-a u odnosu na zdrave pojedince. U bolesnika s AKD-om, prisutnost alergijskog rinonkonjunktivitisa uzrokovala je povišene razine IgE, IgA, IgG, IgG4, kao i IL-4, IL-15, IL-8 i IL-6 u serumu, a isti su imali smanjeni omjer CD4+/CD8+ i povećani udio memorijske podskupine CD4+ limfocita, s promijenjenim Th2 odgovorom i pojačanom aktivacijom CD8+ limfocita u odnosu na one koji su imali samo AKD ili samo alergijski rinonkonjunktivitis (134). Prema rezultatima našeg istraživanja u bolesnika s AKD-om šaka i atopijskom bolesti, prethodno opisane tendencije u razlikama parametara u odnosu na bolesnike s AKD-om šaka bez atopije (Tablica 9.) također su u skladu s rezultatima navedenih studija, primjerice u višim razinama IL-6 u serumu (134), ili u lakšoj kliničkoj slici AKD-a šaka (135,136), iako nismo dokazali statističku značajnost navedenih razlika.

Nadalje, dosadašnja istraživanja pokazuju kako je u bolesnika s atopijskim dermatitisom veća prevalencija IKD-a i AKD-a (26,27). Studija autora Hamnerius N i sur. čak pokazuje prisutnost atopijskog dermatitisa kao neovisnog čimbenika rizika za nastanak AKD-a (137), a prema studiji autora Malik M i sur., AKD i IKD u 38% ispitanika bili su povezani s atopijskim dermatitisom (28). Uz to je, u drugim istraživanjima, uočena povezanost i s drugim atopijskim bolestima poput astme i/ili alergijskog rinokonjunktivitisa (28–31). Mehanizam povezanosti atopijskog dermatitisa i AKD-a je manje jasan, a podaci iz literature su proturječni (32–34).

Kako je opisano u uvodnom dijelu disertacije, narušena epidermo-dermalna barijera u bolesnika s atopijskim dermatitisom može povećati prodor alergena kroz rožnati sloj epidermisa i time povećati rizik za nastanak AKD-a (34). Naime, bolesnici s atopijskim dermatitisom imaju veći rizik za razvoj kontaktne preosjetljivost na slabije/blaže alergene u odnosu na one bez atopijske bolesti (35). Glede pozitivnih reakcija na ispitivane alergene u epikutanom testu u bolesnika s AKD-om šaka u našem istraživanju, a koji su imali i atopijski dermatitis, njih 35,71% bilo je pozitivno na nikal sulfat, a njih 21,43% na kobalt klorid. Navedeni alergeni ujedno su bili i najzastupljeniji u toj skupini, a poznato je da aktiviraju uređeni imunosni odgovor. Ipak, bolesnici s AKD-om bez pratećih atopijskih bolesti pretežno su bili pozitivni na barem jedan metal ili neki od snažniji alergena (primjerice karbamate, neomicin, lanolin, kvanterijum i slično) u odnosu na one s AKD-om šaka i atopijskim dermatitsom, koji su češće ispoljavali pozitivne reakcije na nemetalne alergene (primjerice peruvijanski balzam, smjesa mirisa, timerosal, živin precipitat).

S druge strane, neka istraživanja pokazuju kako prevladavajući Th2 citokinski imunosni odgovor, prisutan u bolesnika s atopijskim dermatitisom, može umanjiti rizik za razvoj kontaktne preosjetljivosti, budući da u kontaktnoj preosjetljivosti prevladava Tc i Th1 odgovor (33). Tako su određene studije pokazale da izražene atopijske bolesti mogu predstavljati zaštitu od razvoja kontaktih reakcija preosjetljivosti (135,136). U brojnim imunosnim odgovorima postoji recipročna interakcija između reakcija preosjetljivosti tipa IV i humoralnih odgovora. Prema navedenom, pokazano je da najčešće postoji prevladavajući oblik imunosnog odgovora u pojedinoj bolesti, tako da Thl imunosni odgovor inhibira rast Th2 limfocita, dok citokini koje proizvodi Th2 imunosni odgovor inhibiraju sintezu citokina Thl limfocita (38). Citokin TNF-α, dio je Th1 imunosnog odgovora, dok IL-6 potiče diferencijaciju Th2 i istovremeno inhibira Th1 polarizaciju te u sinergiji s IL-7 i IL-15 inducira diferencijaciju i citotoksični kapacitet CD8+ T limfocita, a koji je važan u patogenezi AKD-a (60,61). U našem istraživanju nismo potvrdili značajne razlike IL-6 i TNF-α citokina u serumu između bolesnika s AKD-om šaka i atopijskom bolesti i onih bez atopije. Jedan od razloga tome može biti lokalizacija upalnog procesa, kontaktne reakcije preosjetljivosti, na samom mjestu kontakta s alergenom, u koži (uz izostanak sustavne upale kako smo ranije opisali). Također je moguće da postoji latentni protektivan učinak atopije na težu kliničku sliku AKD-a i samim time protektivan učinak na razvoj sustavnog imunosnog odgovora na kontaktni alergen. S druge strane, kao sporedni nalaz, većina bolesnika s AKD-om šaka i atopijskom bolesti u trenutku našeg istraživanja nisu bili u egzacerbaciji svoje atopijske bolesti (djelomično zbog remisije atopijskog dermatitisa i astme,

a djelomično zbog slučajnosti što u razdoblju kada su uključeni u studiju tada nije bila sezona visokih koncentracija inhalacijskih alergena na koje su pozitivni). Navedeno može biti još jedan od mogućih razloga za izostanak razlike u koncentracijama citokina IL-6 i TNF-α među skupinama, s obzirom da u tih bolesnika nije u tom trenutku bilo izraženosti atopijske bolesti i samim time potencijalnog sustavnog imunosnog odgovora. Gledajući rezultate našeg istraživanja, ostaje upitno postoji li razlika u ravnoteži Th1/Th2 imunosnog odgovora na lokalnoj razini u koži kada se uspoređuju bolesnici s AKD-om šaka i pratećom atopijskom bolesti s onima bez atopije.

Iako su pojedina istraživanja pokazala povišene razine kortizola u slini u odraslih bolesnika s alergijskim bolestima kože (83), a druga čak da je oslobađanje kortizola u odgovoru na akutne stresore smanjeno (primjerice u bolesnika s atopijskim dermatitisom) (84), rezultati našeg istraživanja nisu pokazali značajnu razliku u kortizolu i intenzitetu PS-a između bolesnika s AKD-om šaka s i bez prateće atopijske bolesti. Nadalje, dosadašnja istraživanja pokazuju da bolesnici s atopijskim bolestima imaju povišeni PS dijelom zbog brojnijih komorbiditeta i utjecaja na kvalitetu života, a djelom zbog povišenih razina citokina IL-2, IL-12, IL-4 koji aktiviraju HHA os pa mogu imati utjecaj na razine kortizola (85). Razlog izostanka razlika u intenzitetu PS-a i razinama kortizola u slini između naših bolesnika s AKD-om šaka s atopijskom bolesti i onih bez atopije može, ponovno, biti činjenica da većina bolesnika s AKD-om šaka i atopijskom bolesti u trenutku istraživanja nije bila u egazcerbaciji svoje atopijske bolesti, zbog čega možda navedena skupina nije subjektivno bila u izraženijem/većem intenzitetu PS-a. Također, izostanak povišenih razina citokina IL-6 i TNF-α u bolesnika s AKD-om šaka u našem istraživanju, indirektno pokazuje izostanak većeg utjecaja na aktivnost i ravnotežu HHA osi.

### 5.5. Ograničenja i prednosti istraživanja

Kao ograničenje našeg istraživanja ističe se izostanak ispitivanja razina citokina IL-6 i TNF- α lokalno u bioptatu lezije kože bolesnika s AKD-om šaka, već su ispitivane samo njihove vrijednosti u serumu. Zbog navedenog, naše istraživanje je ograničeno u mogućnostima donošenja direktnog zaključka o tome kako AKD izaziva isključivo lokalnu upalu bez sustavne reakcije organizma. Dodatnim ispitivanjem razina citokina lokalno u koži u bolesnika s AKD-om šaka moglo bi se rasvijetliti ovo pitanje etiopatogenze, te u potpunosti povezati PNI čimbenike (uključujući i one imunosne) koji utječu na samu bolest. Na taj način mogao bi se ispitati utjecaj poremećaja HHA osi i razina kortizola na imunosne mehanizme lokalizirane u

samoj koži te njihove korelacije na težinu bolesti. Navedeno je istaknuto kao najveće ograničenje ovog istraživanja u povezivanju svih PNI čimbenika u etiopatogenezi AKD-a šaka. Nadalje, ispitivanjem citokina na lokalnoj razini mogla bi se učiniti točnija procjena prevage ili razlike u ravnoteži Th1/Th2 imunosnog odgovora između bolesnika s AKD-om šaka s pratećom atopijskom bolesti u odnosu na one bez atopije.

Nadalje, kao ograničenje ovog istraživanja može se istaknuti i činjenica da je razina kortizola u slini mjerena samo u jednom navratu u razdoblju od 24 sata, i to u jutarnjim satima. Mjerenjem razina kortizola u više različitih vremenskih razdoblja u 24 sata dobila bi se slika o ukupnim razinama kortizola u ispitanika. Navedenim bi se mogao izvesti zaključak o tome imaju li bolesnici s AKD-om šaka veću ukupnu razinu kortizola sa slabijim odgovorom na izloženost PS-u u odnosu na zdrave ispitanike. Time bi se mogla procijeniti stvarna disfunkcija HHA osi kod bolesnika s AKD-om šaka nastala zbog kronične izloženosti PS-u u kojem zbog kronično povišenih ukupnih vrijednosti kortizola njegov odgovor na akutni stresor je smanjen.

Dodatnim ispitivanjem postojanja i opsežnosti simptoma kao što su svrbež, spavanje, i procjenom osobnosti bolesnika mogao bi se dobiti detaljniji uvid u utjecaj težine bolesti na dermatološku kvalitetu života ovih bolesnika. Našim istraživanjem zadržali smo se isključivo na kvantitativnoj procjeni težine bolesti što donekle ograničava procjenu navedenog utjecaja i korelacija. Ipak svi bolesnici imali su kronični AKD šaka što je podrazumijevalo prisutnost lihenifikacije, ragada i fisura na koži šaka iako njihova opsežnost i intenzitet nisu ispitivani.

Za dodatnu kvalitativnu usporedbu kvalitete života bolesnika s AKD-om šaka, bila bi korisna procjena kvalitete života i zdravih ispitanika, primjerice korištenjem dodatnog upitnika kao što su *The Quality of Life Scale* (138) ili *World Health Organization Quality of Life Instrument* (139). Navedenim upitnicima mogla bi se usporediti realna narušenost kvalitete života kod bolesnika s AKD-om šaka u odnosu na zdrave te točnije izvesti zaključak o utjecaju primjerice PS-a ili eventualni utjecaj drugih čimbenika kao što su osobnost, socioekonomski uvjeti i slično na narušenost kvalitete života ispitanika.

Također kao ograničenje ovog istraživanja može se navesti i to da većina bolesnika s pratećom atopijskom bolesti u trenutku istraživanja nije bila u egzacerbaciji svoje atopijske bolesti. Kada bi se u istraživanje u skupinu bolesnika s AKD-om šaka i atopijskom bolesti izabrali isključivo bolesnici koji su u tom trenutku i u egzacerbaciji svoje atopijske bolesti, tada bi se moglo točnije ispitati postojanje razlike u ravnoteži Th1 i Th2 imunosnog odgovora između bolesnika s i bez atopijske bolesti. Tada bi se moglo i detaljnije ispitati, ako bi postojala potencijalna razlika u

sustavnom imunosnom odgovoru (razlika u razinama IL-6 i TNF-α u serumu), te kako ona utječe na PS i dermatološku kvalitetu života. Navedeno ograničenje zapravo je slučajnost nastala tijekom trijažiranja bolesnika s AKD-om šaka za sudjelovanje u istraživanju.

Gledajući prednosti našeg istraživanja, prema našim saznanjima, ono je prvo koje je ispitalo sve komponentne PNI pristupa AKD-u šaka. Potom su specifično i jedinstveno navedeni PNI čimbenici čak ispitivani i za bolesnike s AKD-om šaka s pratećim atopijskim dermatitisom što je također značajno za proširenje spoznaja, ne samo za AKD već i za atopijski dermatitis.

Nadalje, za razliku od većine istraživanja u bolesnika s AKD-om, naši ispitanici imali su široku paletu pozitivnih reakcija na kontaktne alergene (spontano izazvanih, bez umjetne ekspozicije bolesnika, što je važno naglasiti) te kroničnu bolest, čineći naše rezultate tako upotrebljivijima i u razumijevanju AKD-a i pristupu liječenju. Naši rezultati se prema tome odnose na širu populaciju ovih bolesnika, za razliku od većine dosadašnjih istraživanja u literaturi u kojima se dominantno radi o bolesnicima s pozitivnim reakcijama na isključivo jedan alergen ili su kontaktne reakcije preosjetljivosti bile umjetno izazvane (primjerice na miševima). Također, za razliku od ostalih studija, u našem istraživanju koristili smo HEES upitnik koji dokazano korelira s DLQI upitnikom, što nam je pružilo mogućnost dobivanja relevantnijih rezultata navedenih korelacija, za razliku od uporabe nekog od drugih upitnika težine bolesti AKD-a šaka.

Za razliku od dosadašnjih istraživanja, ispitivanjem višebrojnih čimbenika možemo donijeti kvalitetnije zaključke, glede multidisciplinarnog pristupa ovim bolesnicima (u prvom redu uključenje psihijatrijske i psihološke pomoći u liječenju ovih bolesnika), što do sada u literaturi nije pokazano za bolesnike s AKD-om. Ciljanim ispitivanjem objektivnih i subjektivnih parametara ovo doprinosi otvaranju vrata širem i jasnijem pristupu takvim bolesnicima.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Bolesnici s AKD-om šaka subjektivno su izloženi višem intenzitetu kroničnog PS-a te izražavaju slabiji cirkadijani (jutarnji) odgovor HHA osi u odnosu na zdrave ispitanike, što je statistički dokazano nižim razinama jutarnjeg kortizola u slini i višim rezultatom PSS-a. Bolesnici s AKD-om šaka i zdravi pojedinci više se razlikuju u subjektivnom intenzitetu PS-a nego u razinama jutarnjeg kortizola u slini (statistički neznačajno).

2. Istraživanje nije pokazalo značajne razlike u razinama IL-6 i TNF-α u serumu između bolesnika s AKD-om šaka i zdravih ispitanika, što indirektno upućuje na to da u naših bolesnika s AKD-om šaka nije uočen sustavni upalni dogovor.

3. Težina kliničke slike i intenzitet PS-a jedini su statistički značajni prediktori dermatološke kvalitete života AKD-a bolesnika, a izloženost većem intenzitetu PS-a i teža klinička slika značajno narušavaju dermatološku kvalitetu života. Samostalni doprinos subjektivnog intenziteta PS-a većoj narušenosti kvalitete života je veći od doprinosa težine kliničke slike AKD-a šaka (statistički neznačajno).

4. Usporedba skupine bolesnika s AKD-om šaka bez ili s malom narušenosti dermatološke kvalitete života i skupine bolesnika s AKD-om šaka s velikom ili izrazito velikom narušenosti dermatološke kvalitete života pokazuje statistički značajne razlike u subjektivnom intenzitetu PS-a i težini kliničke slike. Skupina s velikom ili izrazito velikom narušenosti dermatološke kvalitete života pritom ima veći intenzitet PS-a i težu kliničku sliku od onih bez ili s malom narušenosti dermatološke kvalitete života.

5. Nijedan od ispitivanih parametara u našem istraživanju nije povezan s duljinom trajanja AKD-a šaka.

6. Skupina bolesnika s AKD-om šaka i pratećom atopijskom bolesti ne razlikuje se značajno u usporedbi ispitivanih parametara u odnosu na one bez prateće atopijske bolesti. Ipak, bolesnici s AKD-om šaka s pratećom atopijskom bolesti imaju blagu tendenciju (ali ne i statistički značajnu) viših razina IL-6 u serumu, slabijeg odgovora HHA osi na stresor (u smislu nižih razina jutarnjeg kortizol u slini), subjektivno višeg intenziteta PS-a, blažu kliničku sliku te više narušenu dermatološku kvalitetu života.

7. Jutarnji kortizol u slini pozitivno i značajno korelira s kortizolom u serumu te je vjerodostojan biomarker PS-a i funkcije HHA osi, čime se može koristiti u istraživačke, ali potencijalno i u dijagnostičke svrhe. Dobi i spol ne utječu na navedenu korelaciju u slini i serumu.

8. Skupina bolesnika s AKD-om šaka blage kliničke slike ima statistički značajno manju narušenost dermatološke kvalitete života od skupine bolesnika s AKD-om šaka teške kliničke slike.

9. Višestruka usporedba po dvije skupine formirane prema težini AKD-a šaka ne pokazuje statistički značajne razlike u razini jutarnjeg kortizola u slini.

10. U skupini bolesnika sa subjektivno umjerenim ili visokim intenzitetom PS-a utvrđena je statistički značajnije narušena dermatološka kvaliteta života u odnosu na skupinu bolesnika s AKD-om šaka sa subjektivno niskim intenzitetom PS-a.

11. Skupina bolesnika s AKD-om šaka sa subjektivno niskim intenzitetom PS-a i skupina bolesnika s umjerenim ili visokim intenzitetom PS-a nisu se značajno razlikovale u dobi, razini IL-6 i TNF-α u serumu, razini jutarnjeg kortizola u slini, težini bolesti, kao niti duljini trajanja bolesti.

Prema našim spoznajama, ovo istraživanje prvo je do sada u kojem se provela detaljna analiza PNI čimbenika u bolesnika s AKD-om šaka. Rezultati istraživanja, po prvi puta do sada, pružaju više spoznaja o bolesnicima s AKD-om šaka, dokazujući značajno veći intenzitet PS-a, postojanost lošijeg odgovora HHA osi na stresore i utjecaj pojedinih parametara u narušavanju dermatološke kvalitete života. Navedene spoznaje pridonose i naglašavaju važnost multidisciplinarnog pristupa bolesnicima s AKD-om šaka, kao što je, primjerice, uključivanje psihološke pomoći, psihijatrijskih intervencija i terapije, utjecaj na kvalitetnije nošenje bolesnika sa svakodnevicom te suradnju dermatologa-alergologa i liječnika drugih struka (primjerice pulmologa-alergologa i otorinolaringologa-alergologa). Multidisciplinarni pristup mogao bi približiti bolesnike s AKD-om šaka ispunjenju cilja poboljšanja terapijskog odgovora i poboljšanju njihove dermatološke kvalitete života.

## 7. LITERATURA


1. Nixon RL, Mowad CM, Marks Jr JG. Allergic contact dermatitis. U: Bolognia JL, Schaffer J V., Cerroni L. Dermatology. 4. izdanje. Cambridge: Elsevier; 2018. str. 242–61.

2. Slominski A, Wortsman J, Tuckey RC, Paus R. Differential expression of HPA axis homolog in the skin. Mol Cell Endocrinol. 2007;265-266:143-9.

3. Slominski AT, Zmijewski MA, Skobowiat C, Zbytek B, Slominski RM, Steketee JD. Sensing the environment: regulation of local and global homeostasis by the skin's neuroendocrine system. Adv Anat Embryol Cell Biol. 2012;212:v, vii, 1-115.

4. Quevedo ME, Slominski A, Pinto W, Wei E, Wortsman J. Pleiotropic effects of corticotropin releasing hormone on normal human skin keratinocytes. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2001;37(1):50-4.

5. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff H, Burgdorf W. Allergic contact dermatitis. U: Braun-Falco O, Plewig G, Wolff H, Burgdorf W. Dermatology. 2. izdanje. Berlin, Germany, Germany: Springer-Verlag; 2000. str. 467–84.

6. Nethercott JR, Holness DL, Adams RM, Belsito D V, De Leo VA, Emmett EA, i sur. Patch testing with a routine screening tray North America, 1985 through 1989: iii. age and response. Am J Contact Dermat. 1991;2;122-29.

7. Silvestre MC, Sato MN, Reis VMSD. Innate immunity and effector and regulatory mechanisms involved in allergic contact dermatitis. An Bras Dermatol. 2018 Mar;93(2):242-50.

8. Contact irritation mechanisms. U: Basketter DA, Gerberick F, Kimber I, Willis C. Toxicology of contact dermatitis: allergy, irritancy and urticaria (current toxicology). West Sussex P019 1UD, England: John Wiley & Sons; 1999. str. 11–38.

9. Krasteva M, Kehren J, Horand F, Akiba H, Choquet G, Ducluzeau MT, i sur. Dual role of dendritic cells in the induction and down-regulation of antigen-specific cutaneous inflammation. J Immunol. 1998;160(3):1181–90.

10. Novak-Bilić G, Vučić M, Japundžić I, Meštrović-Štefekov J, Stanić-Duktaj S, Lugović-Mihić L. Irritant and allergic contact dermatitis - skin lesion characteristics. Acta Clin

Croat. 2018;57(4):713-720.

11. Dhingra N, Shemer A, Correa da Rosa J, Rozenblit M, Fuentes-Duculan J, Finney R, i sur. Molecular profiling of contact dermatitis skin identifies allergen-dependent differences in immune response. J Allergy Clin Immunol. 2014;134(2):362–72.

12. Peiser M, Tralau T, Heidler J, Api AM, Arts JHE, Basketter DA, i sur. Allergic contact dermatitis: Epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects. Cellular and Molecular Life Sciences. 2012;69(5):763-81.

13. Pastore S, Mascia F, Mariotti F, Dattilo C, Girolomoni G. Chemokine networks in inflammatory skin diseases. Eur J Dermatol. 2004;14(4):203-8.

14. Heede NG, Thyssen JP, Thuesen BH, Linneberg A, Szecsi PB, Stender S,i sur. Health-related quality of life in adult dermatitis patients stratified by filaggrin genotype. Contact Dermatitis. 2017;76(3):167-177.

15. Rundle CW, Bergman D, Goldenberg A, Jacob SE. Contact dermatitis considerations in atopic dermatitis. Clin Dermatol. 2017;35(4):367-374.

16. Bäsler K, Brandner JM. Tight junctions in skin inflammation. Pflugers Arch. 2017;469(1):3-14.

17. Bruze M. Seasonal influence on routine patch test results. Contact Dermatitis. 1986;14(3):184.

18. Condie MW, Adams RM. Influence of oral prednisone on patch-test reactions to Rhus antigen. Arch Dermatol. 1973;107(4):540-3.

19. Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T, Andersen KE, Bircher A, Bruze M, i sur. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - Recommendations on best practice. Contact Dermatitis. 2015;73(4):195-221.

20. Spiewak R, Pietowska J, Curzytek K. Nickel: A unique allergen - From molecular structure to European legislation. Expert Rev Clin Immunol. 2007;3(6):851–9.

21. Carlsson A, Svensson Å, Anderson CD, Baranovskaya I, Hindsén-Stenström M, Holt I, i sur. Scoring of Hand Eczema: Good reliability of the Hand Eeczema Extent Score (HEES). Acta Derm Venereol. 2017;97(2):193-97.

22. Richter D. Alergija i alergijske bolesti. U: Mardešić D i sur. Pedijatrija. Zagreb: Školska knjiga; 2016. str. 431–68.

23. Dave N, Xiang L, Rehm K, Marshall GJ. Stress and allergic diseases. Immunol Allergy Clin North Am. 2011;31(1):55–68.

24. Sadeghnejad A, Bleecker E, Meyers D. Principles of genetics in allergic diseases and asthma. U: Jr AN. Middleton's Allergy: Principles and Practice. 7. izdanje. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier; 2009. str. 59–73

25. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos N, Bousquet P, Burney P, i sur. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. Allergy. 2012;67(1):18–24.

26. Gittler JK, Krueger JG, Guttman-Yassky E. Atopic dermatitis results in intrinsic barrier and immune abnormalities: Implications for contact dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2013;131(2):300–13.

27. Landeck L, Visser M, Skudlik C, Brans R, Kezic S, John SM. Clinical course of occupational irritant contact dermatitis of the hands in relation to filaggrin genotype status and atopy. Br J Dermatol. 2012;167(6):1302–9.

28. Malik M, English J. Irritant hand dermatitis in health care workers. Occup Med (Chic Ill). 2015;65(6):474–6

29. Flyvholm MA, Bach B, Rose M, Jepsen KF. Self-reported hand eczema in a hospital population. Contact Dermatitis. 2007;57(2):110–5.

30. Mekonnen TH, Yenealem DG, Tolosa BM. Self-report occupational-related contact dermatitis: Prevalence and risk factors among healthcare workers in Gondar town, Northwest Ethiopia, 2018 - A cross-sectional study. Environ Health Prev Med. 2019;24(1):11.

31. Minamoto K, Watanabe T, Diepgen TL. Self-reported hand eczema among dental workers in Japan – a cross-sectional study. Contact Dermatitis. 2016;75(4):230–9.

32. Malajian D, Belsito D V. Cutaneous delayed-type hypersensitivity in patients with atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol. 2013;69(2):232–7.

33. Thyssen JP, McFadden JP, Kimber I. The multiple factors affecting the association

between atopic dermatitis and contact sensitization. Allergy. 2014;69(1):28-36.

34. Hamann CR, Hamann D, Egeberg A, Johansen JD, Silverberg J, Thyssen JP. Association between atopic dermatitis and contact sensitization: A systematic review and meta-analysis. J Am Acad Dermatol. 2017;77(1):70-8.

35. Kohli N, Nedorost S. Inflamed skin predisposes to sensitization to less potent allergens. J Am Acad Dermatol. 2016;75(2):312-317.e1.

36. Westphal GA, Schnuch A, Moessner R, König IR, Kränke B, Hallier E, i sur. Cytokine gene polymorphisms in allergic contact dermatitis. Contact Dermatitis. 2003;48(2):93-8.

37. Babić Ž, Kežić S, Macan J. Individual susceptibility to contact sensitization: the role of TNFα 308G>A polymorphism and atopy. Eur J Dermatology. 2019;29(1):75-80.

38. Pondeljak N, Lugović-Mihić L. Stress-induced interaction of skin immune cells, hormones, and neurotransmitters. Clin Ther. 2020;42(5):757-70.

39. Victor FC, Gottlieb AB. TNF-alpha and apoptosis: implications for the pathogenesis and treatment of psoriasis. J Drugs Dermatol. 2002;1(3):264-75.

40. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, i sur. A meta-analysis of cytokines in major depression. Biol Psychiatry. 2010;67(5):446-57.

41. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: Depot difference and regulation by glucocorticoid. J Clin Endocrinol Metab. 1998;83(3):847-50.

42. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. Diabetologia. 1997;40(11):1286-92.

43. Ho AW, Kupper TS. Soluble mediators of the cutaneous immune system. U: Kang S, Amagai M, Bruckner A, Enk A, Margolis D, Mcmichael A, i sur. Fitzpatrick's Dermatology. 9. izdanje. New York, SAD: McGraw-Hill Education; 2019. str. 159–91.

44. Cox MA, Kahan SM, Zajac AJ. Anti-viral CD8 T cells and the cytokines that they love. Virology. 2013;435(1):157-69.

45. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. Annu Rev Immunol. 1992;10:411-52.

46. D'Auria L, Mussi A, Bonifati C, Mastroianni A, Giacalone B, Ameglio F. Increased serum IL-6, TNF-alpha and IL-10 levels in patients with bullous pemphigoid: relationships with disease activity. J Eur Acad Dermatol Venereol. 1999;12(1):11-5.

47. Yang X, Yan L, Ha D, Qu L, Liu L, Tao Y. Changes in sICAM-1 and GM-CSF levels in skin tissue fluid and expression of IL-6, IL-17 and TNF-α in blood of patients with vitiligo. Exp Ther Med. 2019;17(1):408-412.

48. Ghahartars M, Abtahi S, Zeinali Z, Fattahi MJ, Ghaderi A. Investigation of TNF-α and IL-6 levels in the sera of non-melanoma skin cancer patients. Iran Biomed J. 2021;25(2):88-92.

49. Idborg H, Eketjäll S, Pettersson S, Gustafsson JT, Zickert A, Kvarnström M, i sur. TNF-α and plasma albumin as biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus. Lupus Sci Med. 2018;5(1):e000260.

50. Pan Y, Wen X, Hao D, Wang Y, Wang L, He G, i sur. The role of IL-37 in skin and connective tissue diseases. Biomed Pharmacother. 2020;122:109705.

51. Ye L, Ji L, Wen Z, Zhou Y, Hu D, Li Y, i sur. IL-37 inhibits the production of inflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus: its correlation with disease activity. J Transl Med. 2014;12:69.

52. Grieco T, Porzia A, Paolino G, Chello C, Sernicola A, Faina V, i sur. IFN-γ/IL-6 and related cytokines in chronic spontaneous urticaria: evaluation of their pathogenetic role and changes during omalizumab therapy. Int J Dermatol. 2020;59(5):590-594.

53. Goes HF de O, Virgens AR, de Carvalho GC, Pietrobon AJ, Branco ACCC, Oliveira LM da S, i sur. Proinflammatory and regulatory mechanisms in allergic contact dermatitis caused by methylchloroisothiazolinone and methylisothiazolinone. Exp Dermatol. 2020;29(5):490–8.

54. Li LF, Liu G, Wang J. Prevalence and 1-year outcome of facial allergic contact dermatitis in patients patch tested in a university hospital. Contact Dermatitis. 2007;57(3):187-90.

55. Curzytek K, Maes M, Kubera M. Immune-regulatory and molecular effects of

antidepressants on the inflamed human keratinocyte HaCaT cell line. Neurotox Res. 2021;39(4):1211–26.

56. Kwon B, Hong S, Kim EY, Kim JH, Kim M, Park JH, i sur. Effect of cone of pinus densiflora on dncb-induced allergic contact dermatitis-like skin lesion in balb/c mice. Nutrients. 2021;13(3):1–16.

57. Galbiati V, Marinovich M, Corsini E. Mechanistic understanding of dendritic cell activation in skin sensitization: additional evidences to support potency classification. Toxicol Lett. 2020;322:50-7.

58. Sakai H, Ishida T, Sato K, Mandokoro K, Yabe S, Sato F, i sur. Interference of skin scratching attenuates accumulation of neutrophils in murine allergic contact dermatitis model. Inflammation. 2019;42(6):2226-35.

59. Kondo S, Pastore S, Shivji GM, McKenzie RC, Sauder DN. Characterization of epidermal cytokine profiles in sensitization and elicitation phases of allergic contact dermatitis as well as irritant contact dermatitis in mouse skin. Lymphokine Cytokine Res. 1994;13(6):367-75.

60. Diehl S, Rincón M. The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation. Mol Immunol. 2002;39(9):531-6.

61. Osugi Y, Hara J, Tagawa S, Takai K, Hosoi G, Matsuda Y, i sur. Cytokine production regulating Th1 and Th2 cytokines in hemophagocytic lymphohistiocytosis. Blood. 1997;89(11):4100-3.

62. Cumberbatch M, Kimber I. Dermal tumour necrosis factor-alpha induces dendritic cell migration to draining lymph nodes, and possibly provides one stimulus for Langerhans' cell migration. Immunology. 1992;75(2):257–63.

63. Piguet PF, Grau GE, Hauser C, Vassalli P. Tumor necrosis factor is a critical mediator in hapten-induced irritant and contact hypersensitivity reactions. J Exp Med. 1991;173(3):673–9.

64. Becke FM, Hehlgans T, Brockhoff G, Männel DN. Development of allergic contact dermatitis requires activation of both tumor necrosis factor receptors. Eur Cytokine Netw. 2001;12(1):45–50.

65. Dittmar D, Schuttelaar ML. Immunology and genetics of tumour necrosis factor in allergic contact dermatitis. Contact Dermatitis. 2017;76(5):257-71.

66. Jia Q, Zang D, Yi J, Dong H, Niu Y, Zhai Q, i sur. Cytokine expression in trichloroethylene-induced hypersensitivity dermatitis: An in vivo and in vitro study. Toxicol Lett. 2012;215(1):31–9.

67. Akhtar N, Satyam A, Anand V, Verma KK, Khatri R, Sharma A. Dysregulation of TH type cytokines in the patients of Parthenium induced contact dermatitis. Clin Chim Acta. 2010;411(23–24):2024–8.

68. Kimber I, Cumberbatch M, Humphreys M, Hopkins SJ. Contact hypersensitivity induces plasma interleukin 6. Int Arch Allergy Appl Immunol. 1990;92(1):97-9.

69. Folkman S, Moskowitz JT. Positive affect and the other side of coping. Am Psychol. 2000;55(6):647-54.

70. Hudek-Knežević J, Kardum I, Maglica BK. The sources of stress and coping styles as mediators and moderators of the relationship between personality traits and physical symptoms. Rev Psychol. 2005;12(2):91–101.

71. Oyola MG, Handa RJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. Stress. 2017;20(5):476-94.

72. Senra MS, Wollenberg A. Psychodermatological aspects of atopic dermatitis. Br J Dermatol. 2014;170(SUPPL. 1):38–43.

73. Buske-Kirschbaum A, Trikojat K, Tesch F, Schmitt J, Roessner V, Luksch H, i sur. Altered hypothalamus-pituitary-adrenal axis function: A relevant factor in the comorbidity of atopic eczema and attention deficit/hyperactivity disorder? Psychoneuroendocrinology. 2019;105:178-86.

74. Tian R, Hou G, Li D, Yuan TF. A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications for health. ScientificWorldJournal. 2014;2014:780616.

75. Maeng SH, Hong H. Inflammation as the potential basis in depression. Int Neurourol J. 2019;23(Suppl 2):S63-71.

76. Karlović D, Serretti A, Vrkić N, Martinac M, Marčinko D. Serum concentrations of CRP, IL-6, TNF-α and cortisol in major depressive disorder with melancholic or atypical features. Psychiatry Res. 2012;198(1):74–80.

77. Slominski A, Zbytek B, Semak I, Sweatman T, Wortsman J. CRH stimulates POMC activity and corticosterone production in dermal fibroblasts. J Neuroimmunol. 2005;162(1-2):97-102.

78. Rogoff D, Gomez-Sanchez CE, Foecking MF, Wortsman J, Slominski A. Steroidogenesis in the human skin: 21-hydroxylation in cultured keratinocytes. J Steroid Biochem Mol Biol. 2001;78(1):77-81.

79. Itoi S, Terao M, Murota H, Katayama I. 11β-Hydroxysteroid dehydrogenase 1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes. Biochem Biophys Res Commun. 2013;440(2):265-70.

80. Huang M, Berry J, Kandere K, Lytinas M, Karalis K, Theoharides TC. Mast cell deficient W/W(v) mice lack stress-induced increase in serum IL-6 levels, as well as in peripheral CRH and vascular permeability, a model of rheumatoid arthritis. Int J Immunopathol Pharmacol. 2002;15(3):249-54.

81. Janardhanan AK, Sukumarakurup S, Abdul Latheef EN, George B, Riyaz N, Sukumaran SV, i sur. Therapeutic considerations related to stress levels associated with hand eczema: A clinico-etiological study. Dermatol Ther. 2020;33(6):e14508.

82. Kitagaki H, Hiyama H, Kitazawa T, Shiohara T. Psychological stress with long-standing allergic dermatitis causes psychodermatological conditions in mice. J Invest Dermatol. 2014;134(6):1561–9.

83. Mizawa M, Yamaguchi M, Ueda C, Makino T, Shimizu T. Stress evaluation in adult patients with atopic dermatitis using salivary cortisol. Biomed Res Int. 2013;2013:138027.

84. Bieber T. Atopic dermatitis. Ann Dermatol. 2010;22(2):125-37.

85. Besedovsky HO, del Rey A. The cytokine-HPA axis feed-back circuit. Z Rheumatol. 2000;59 Suppl 2:II/26-30.

86. Lugovic-Mihic L, Meštrovic-Štefekov J, Pondeljak N, Dasovic M, Tomljenovic-

Veselski M, Cvitanovic H. Psychological stress and atopic dermatitis severity following the covid-19 pandemic and an earthquake. Psychiatr Danub. 2021;33(3):393–401.

87. Kojima R, Matsuda A, Nomura I, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, i sur. Salivary cortisol response to stress in young children with atopic dermatitis. Pediatr Dermatol. 2013;30(1):17–22.

88. Goyal A, Singh S, Vir D, Pershad D. Automation of stress recognition using subjective or objective measures. Psychol Stud. 2016;61:348–64.

89. Gaur A, Kumar Ca, Kumar J, R. Nair G, Agrawal V. Estimation of salivary cortisol level and psychological assessment in patients with oral lichen planus. J Indian Acad Oral Med Radiol. 2018;30(1):14.

90. Kudielka BM, Hellhammer DH, Wüst S. Why do we respond so differently? Reviewing determinants of human salivary cortisol responses to challenge. Psychoneuroendocrinology. 2009;34(1):2–18.

91. Burke CW. The effect of oral contraceptives on cortisol metabolism. J Clin Pathol. 1969;S1-3(1):11–8.

92. Meulenberg PMM, Ross HA, Swinkels LMJW, Benraad TJ. The effect of oral contraceptives on plasma-free and salivary cortisol and cortisone. Clin Chim Acta. 1987;165(2–3):379–85.

93. Inder WJ, Dimeski G, Russell A. Measurement of salivary cortisol in 2012 - Laboratory techniques and clinical indications. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;77(5):645–51.

94. Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. J Health Soc Behav. 1983;24(4):385–96.

95. Fazlić H, Brborović O, Vukušić Rukavina T, Fišter K, Milošević M, Mustajbegović J. Karakteristike osoba sa opaženim stresom u hrvatskoj: Crohort istraživanje. Coll Antropol. 2012;36(SUPPL. 1):165–9.

96. The WHOQOL Group. The World Health Organization quality of life assessment (WHOQOL): Position paper from the World Health Organization. Soc Sci Med. 1995;41(10):1403–9.

97. Kadyk DL, McCarter K, Achen F, Belsito DV. Quality of life in patients with allergic contact dermatitis. J Am Acad Dermatol. 2003;49(6):1037–48.

98. Lifschitz C. The impact of atopic dermatitis on quality of life. Ann Nutr Metab. 2015;66:34–40.

99. Finlay AY, khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI)—a simple practical measure for routine clinical use. Clin Exp Dermatol. 1994;19(3):210–6.

100. Yang Y, Koh D, Ng V, Lee FCY, Chan G, Dong F, i sur. Salivary cortisol levels and work-related stress among emergency department nurses. J Occup Environ Med. 2001;43(12):1011–8

101. Ferrari E, Cravello L, Muzzoni B, Casarotti D, Paltro M, Solerte SB, i sur. Age-related changes of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: pathophysiological correlates. Eur J Endocrinol. 2001;144(4):319-29.

102. Hanifin, JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol

Suppl (Stockh). 1980;92:44–47.

103. Morris MC, Mielock AS, Rao U. Salivary stress biomarkers of recent nicotine use and dependence. Am J Drug Alcohol Abuse. 2016;42(6):640-48.

104. Ljubojević Hadžavdić S, Mokos M. Kontaktni dermatitisi. U: Lugović-Mihić L, ur. Urtikarije i egzemi/dermatitisi. Zagreb, Hrvatska: Medicinska naklada; 2022. str. 77–89.

105. Swietlik J, Reeder M. Current quality-of-life tools available for use in contact dermatitis. Dermatitis. 2016;27(4):176-85.

106. Pruessner JC, Wolf OT, Hellhammer DH, Buske-Kirschbaum A, Von Auer K, Jobst S, i sur. Free cortisol levels after awakening: A reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. Life Sci. 1997;61(26):2539–49.

107. Blood Studies. U: Pagana, KD, Pagan, TJ. Manual of diagnostic and laboratory tests. Elsevier; 2018. str. 10-476.

108. Rauhut MM. Chemiluminescence. U: Grayson M. Kirk-Othmer concise encyclopedia of chemical technology. 3. izdanje. John Wiley and Sons; 1985. str. 247.

109. Lugović L, Situm M, Vurnek M, Buljan M. Djelovanje psiho-neuroimunoloskih i endokrinoloskih cimbenika u bolesnika s malignim bolestima koze [Influence of psychoneuroimmunologic factors on patients with malignant skin diseases]. Acta Med Croatica. 2007;61(4):383-9. Hrvatski.

110. Li W, Ding F, Zhai Y, Tao W, Bi J, Fan H, i sur. IL-37 is protective in allergic contact dermatitis through mast cell inhibition. Int Immunopharmacol. 2020;83:106476.

111. Shiohara T, Kano Y. Are viral infections responsible for the development of drug-induced hypersensitivity syndrome as well as graft-versus-host diseases? Dermatology. 2005;210(4):259-60.

112. Bocquet H, Bagot M, Roujeau JC. Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms: DRESS). Semin Cutan Med Surg. 1996;15(4):250-7.

113. Senra MS, Wollenberg A. Psychodermatological aspects of atopic dermatitis. Br J Dermatol. 2014;170 Suppl 1:38-43.

114. Hall JMF, Witter AR, Racine RR, Berg RE, Podawiltz A, Jones H, i sur. Chronic psychological stress suppresses contact hypersensitivity: Potential roles of dysregulated cell trafficking and decreased IFN-γ production. Brain Behav Immun. 2014;36:156–64.

115. Rajcani J, Solarikova P, Buzgoova K, Brezina I, Jezova D. Patients with atopy exhibit reduced cortisol awakening response but not cortisol concentrations during the rest of the day. Immunol Res. 2019;67(2–3):176–81.

116. Meštrović-Štefekov J, Lugović-Mihić L, Hanžek M, Bešlić I, Japundžić I, Karlović D. Salivary Cortisol Values and Personality Features of Atopic Dermatitis Patients: A Prospective Study. Dermatitis. 2022 Jan 25. doi: 10.1097/DER.0000000000000834. Epub ahead of print.

117. Debono M, Harrison RF, Whitaker MJ, Eckland D, Arlt W, Keevil BG, i sur. Salivary cortisone reflects cortisol exposure under physiological conditions and after hydrocortisone. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(4):1469–77.

118. Teruhisa U, Ryoji H, Taisuke I, Tatsuya S, Fumihiro M, Tatsuo S. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. Clin Chim Acta. 1981;110(2–3):245–

53.

119. Wedekind D, Bandelow B, Broocks A, Hajak G, Rüther E. Salivary, total plasma and plasma free cortisol in panic disorder. J Neural Transm. 2000;107(7):831–7.

120. Benyamini Y, Goner-Shilo D, Lazarov A. Illness perception and quality of life in patients with contact dermatitis. Contact Dermatitis. 2012;67(4):193–9.

121. Kalboussi H, Kacem I, Aroui H, El Maalel O, Maoua M, Brahem A, i sur. Impact of allergic contact dermatitis on the quality of life and work productivity. Dermatol Res Pract. 2019;2019:3797536.

122. Ayala F, Nino M, Fabbrocini G, Panariello L, Balato N, Foti C, i sur. Quality of life and contact dermatitis: A disease-specific questionnaire. Dermatitis. 2010;21(2):84–90.

123. Nørreslet LB, Agner T, Sørensen JA, Ebbehøj NE, Bonde JP, Fisker MH. Impact of hand eczema on quality of life: metropolitan versus non-metropolitan areas. Contact Dermatitis. 2018;78(5):348–54.

124. Kouris A, Armyra K, Christodoulou C, Katoulis A, Potouridou I, Tsatovidou R, i sur. Quality of life, anxiety, depression and obsessive-compulsive tendencies in patients with chronic hand eczema. Contact Dermatitis. 2015;72(6):367–70.

125. Bonneville M, Chavagnac C, Vocanson M, Rozieres A, Benetiere J, Pernet I, i sur. Skin contact irritation conditions the development and severity of allergic contact dermatitis. J Invest Dermatol. 2007;127(6):1430–5.

126. Magnusson B, Kligman AM. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test. J Invest Dermatol. 1969;52(3):268–76.

127. Kligman AM. The identification of contact allergens by human assay. 3. The maximization test: a procedure for screening and rating contact sensitizers. J Invest Dermatol. 1966;47(5):393–409.

128. Lugović-Mihić L, Meštrović-Štefekov J, Ferček I, Pondeljak N, Lazić-Mosler E, Gašić A. Atopic dermatitis severity, patient perception of the disease, and personality characteristics: How are they related to quality of life? Life (Basel). 2021;11(12):1434.

129. Kezic S, Visser MJ, Verberk MM. Individual susceptibility to occupational contact

dermatitis. Ind Health. 2009;47(5):469-78.

130. Wongpiyabovorn J, Puvabanditsin P. Result of standard patch test in patients suspected of having allergic contact dermatitis. J Med Assoc Thai. 2005;88 Suppl 4:S177-83.

131. Teo Y, McFadden JP, White IR, Lynch M, Banerjee P. Allergic contact dermatitis in atopic individuals: Results of a 30-year retrospective study. Contact Dermatitis. 2019;81(6):409-16.

132. Cahill J, Keegel T, Dharmage S, Nugriaty D, Nixon R. Prognosis of contact dermatitis in epoxy resin workers. Contact Dermatitis. 2005;52(3):147-53.

133. Slodownik D, Wohl Y, Mansura A, Moshe S, Sarbagil-Maman H, Shochat T, i sur. Allergic contact dermatitis among maintenance and clerical workers in a military population. Contact Dermatitis. 2006;55(6):335-7.

134. Chai W, Zhang X, Lin M, Chen Z, Wang X, Wang C, i sur. Allergic rhinitis, allergic contact dermatitis and disease comorbidity belong to separate entities with distinct composition of T-cell subsets, cytokines, immunoglobulins and autoantibodies. Allergy Asthma Clin Immunol. 2022;18(1):10.

135. Thyssen JP, Johansen JD, Linneberg A, Menné T, Engkilde K. The association between contact sensitization and atopic disease by linkage of a clinical database and a nationwide patient registry. Allergy Eur J Allergy Clin Immunol. 2012;67(9):1157-64.

136. Uehara M, Sawai T. A Longitudinal study of contact sensitivity in patients with atopic dermatitis. Arch Dermatol. 1989;125(3):366-8.

137. Hamnerius N, Svedman C, Bergendorff O, Björk J, Bruze M, Pontén A. Wet work exposure and hand eczema among healthcare workers: a cross-sectional study. Br J Dermatol. 2018;178(2):452–61.

138. Flanagan JC. A research approach to improving our quality of life. Am Psychol. 1978;33(2):138–47.

139. WHO. WHO | WHOQOL: Measuring Quality of Life. Health statistics and information systems (WHO). 2020.

# 8. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

Nives Pondeljak rođena je 11.11.1994. godine u Zagrebu. Nakon završetka osnovnoškolskog obrazovanja upisuje XV. gimnaziju (MIOC) u Zagrebu koju završava 2013. godine.

Studij medicine započinje 2013. godine na Medicinskom fakultetu (MF), Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija, njena predanost radu rezultira dodjelom Dekanove nagrade za izvrsnost i Dekanove nagrade za znanstveni rad studenata. Razvila je veliki interes za dermatovenerologiju te uz mentorstvo Katedre za dermatovenerologiju MF-a osniva Studentsku sekciju za dermatovenerologiju čiji je bila voditelj do kraja studija. Godine 2019. diplomirala je na MF, diplomskim radom „Dermoskopska dijagnostika“.

Ubrzo nakon završenog studija, u prosincu 2019. godine, započinje specijalističko usavršavanje iz dermatologije i venerologije u KBCSM, te istovremeno upisuje poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (SFZG). Od siječnja 2022. nastavlja specijalizaciju iz dermatologije i venerologije za OB „dr. Ivo Pedišić“, Sisak. Uključila se u aktivnu edukaciju iz područja dermatovenerologije, pohađala više dermatoloških tečajeva i sudjelovala u stručnim usavršavanjima i simpozijima.

Tijekom poslijediplomskog doktorskog studija postala je i dobitnica Stipendije Grada Zagreba za izvrsnost doktorandima, kao jedina doktorandica SFZG-a za akademsku 2020./2021.godinu.

Autor je i koautor 10 znanstvenih članaka od kojih je 9 objavljeno u visoko indeksiranim znanstvenim časopisima. Također je autor 13 sažetaka i predavanja na kongresima s međunarodnim sudjelovanjem. Na kraju, najvažnije od svega, majka je male djevojčice Line.

**Radovi objavljeni u časopisima koji se indeksiraju u međunarodnim indeksiranim publikacijama (SCI, SSCI, Inex Medicus, Excerpta Medica, Biological ili Chemical Abstracts) → RADOVI PROIZAŠLI TIJEKOM DOKTORSKOG STUDIJA**

**Prvi autor:**

- **Clinical Therapeutics; Impact: 2.935; Q2→ RAD PROIZAŠAO TIJEKOM DOKTORATSKOG STUDIJA**
- **CURRENT CONTENTS (CC) indeks časopisa**
- **Pondeljak N,** Lugović-Mihić L**.** Stress-induced interaction of skin immune cells, hormones, and neurotransmitters. **Clin Ther 2020**;42:757-770**.**

**Koautor:**

- **Psychiatria Danubina; H indeks: 34; Q3**
- **CURRENT CONTENTS (CC)- Social and Behavioral Sciences- indeks časopisa**
- Lugović-Mihić L, Meštrović-Štefekov J, **Pondeljak N**, Dasović M, Tomljenović-Veselski M, Cvitanović H. Psychological stress and atopic dermatitis severity following the covid-19 pandemic and an earthquake. **Psychiatria Danubina 2021**;33:393-401.

- **Postgraduate Medical Journal; Impact: 1.911; Q2**
- **CURRENT CONTENTS (CC) indeks časopisa**
- Bulat V , Likic R, **Pondeljak N**, Delaš-Aždajić M. Pholcodine induced Stevens-Johnson syndrome in a patient with COVID-19. **Postgrad Med J. 2021**.

- **Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica; H indeks: 26; Q3**
- **EMERGING SOURCES CITATION INDEX (ESCI) indeks časopisa**
- Pedić L, **Pondeljak N**, Šitum M. Recent information on photoaging mechanisms and the preventive role of topical sunscreen products. **Acta Dermatol APA 2020**;29:201-207.

- **Acta Clinica Croatica; Impact: 0.403; Q3**
- **SCIENCE CITATION INDEX EXPANDED (SCIE) indeks časopisa**
- Lugović-Mihić L, Lovrić I, Budimir J, **Pondeljak N**, Mravak-Stipetić M. Common allergies and allergens in oral and perioral diseases. **Acta Clin Croat 2020**;59:318-328.

**Radovi objavljeni u časopisima koji se indeksiraju u Scopus → RADOVI PROIZAŠLI TIJEKOM DOKTORSKOG STUDIJA**

- **Folia Medica; H indeks: 21, Q4**
- **INDEX MEDICUS indeksiranost časopisa**
- Lugović-Mihić L, Mandušić N, Dasović M, **Pondeljak N,** Kuna M, Pozderac I. D vitamin supplementation in patients with atopic dermatitis, chronic urticarisa and contact irritant and allergic dermatitis- possible improvement without risk. **Folia Medica 2022;64(3).**

- **Life; Impact factor 3,817; Q1**
- **CURRENT CONTENTS (CC)**
- Lugović-Mihić L, Meštrović-Štefekov J, Ferček I, **Pondeljak N**, Lazić-Mosler E, Gašić A. Atopic dermatitis severity, patient perception of the disease, and personality characteristics: how are they related to quality of life? **Life (Basel) 2021**;11:1434.

- Homolak D, **Pondeljak N**, Franceschi N, Dediol I. Biološka terapija u liječenju bolesnika sa psorijazom. **Medix** 2020;26(143):88-93.

**Sažetci na kongresima i drugim skupovima→ PROIZAŠLI TIJEKOM DOKTORSKOG STUDIJA**

**Prvi autor:**

- **Pondeljak N**, Lugović Mihić L: Povezanost psihičkog stresa, neuroendokrinih i imunosnih čimbenika kod upalnih bolesti kože. 5. hrvatski kongres psihodermatologije s međunarodnim sudjelovanjem; 02.-05.09.2021. virtualni simpozij. **→PREDAVANJE- GLAVNI PREDAVAČ.**

**Koautor:**

- Lugović-Mihić L, **Pondeljak N**, Bukvić I, Bulat V, Ferček I, Ćesić D. Influence of associated diseases on skin disease outcomes in patients with chronic urticaria and nummular eczema. EADVIRTUAL, 29.-31. listopad 2020. Poster prezentacija. P0204. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**
- Lugović-Mihić l, **Pondeljak N**, Ferček I, Japundžić I, Blagec T, Novak I. Key factors in recognizing the right type of cheilitis and lip inflammatory lesions. EADVIRTUAL, 29.-31. listopad 2020. Poster prezentacija. P1127. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**

- Bulat V, **Pondeljak N**, Šitum M: Melanociti kao živčana stanica: nove spoznaje. 5. hrvatski kongres psihodermatologije s međunarodnim sudjelovanjem; 02.-05.09.2021. virtualni simpozij. **→PREDAVANJE/SUDJELOVANJE NA KONGRESU**
- Špoljar S, Bešlić I, **Pondeljak N**, Pedić L, Mikulić M. Psihološki čimbenici bolesnika koji utječu na zakašnjelo dijagnosticiranje tumora kože. 5. hrvatski kongres psihodermatologije s međunarodnim sudjelovanjem; 02.-05.09.2021. virtualni simpozij. **→PREDAVANJE/SUDJELOVANJE NA KONGRESU**
- Jerković H, Crnarić I, **Pondeljak N**, Šitum M. Razlike u ličnosti bolesnika s psorijazom i melanomom – preliminarni rezultati. 5. hrvatski kongres psihodermatologije s međunarodnim sudjelovanjem; 02.-05.09.2021. virtualni simpozij. **→PREDAVANJE/SUDJELOVANJE NA KONGRESU**

- Lugović-Mihić L, Cvitanović H, Bešlić I, **Pondeljak N**, Kuna M, Japundžić I. Determination of psychoneuroimmune factors in patients with HPV manifestations. EADV Spring Symposium (online), 06-07 May, 2021. Poster prezentacija. PO46. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**

- Špoljar S, **Pondeljak N**, Pedić L, Bešlić I. Važnost digitalne dermatoskopije s posebnim osvrtom na mapiranje cijelog tijela kao dijagnostičkom metodom ranog otkrivanja melanoma. 3. znanstveni simpozij multidisciplinarnih timova za melanom, 26.-27. veljače 2021. Zagreb. → **PREDAVANJE/SUDJELOVANJE NA KONGRESU**
- Špoljar S, Pedić L, Bešlić I, **Pondeljak N**. Može li nas anamneza bolesnika navesti na pogrešnu dijagnozu- prikaz slučaja. 3. znanstveni simpozij multidisciplinarnih timova za melanom, 26.-27. veljače 2021. Zagreb. → **PREDAVANJE/SUDJELOVANJE NA KONGRESU**

**OSTALI RADOVI objavljeni u časopisima koji se indeksiraju u međunarodnim indeksiranim publikacijama (SCI, SSCI, Inex Medicus, Excerpta Medica, Biological ili Chemical Abstracts)**

**Prvi autor:**

- **Acta Dermatovenerologica Croatica; Impact: 0.855; Q3**
- **SCIENCE CITATION INDEX EXPANDED (SCIE) indeks časopisa**
- **Pap N**, Bradamante M, Ljubojević Hadžavdić S. Localized perforating granuloma annulare. **Acta Dermatovenerol Croat 2019**;27:33-36.

**Koautor:**

- **Acta Dermatovenerologica Croatica; Impact: 0.855; Q3**
- **SCIENCE CITATION INDEX EXPANDED (SCIE) indeks časopisa**
- Meštrović-Štefekov J, Novak-Bilić G, Kuna M, **Pap N**, Lugović-Mihić L. Psychological stress in patients with atopic dermatitis. **Acta Dermatovenerol Croat 2018**;26:297-303.

**OSTALI SAŽETCI na kongresima i drugim skupovima**

- Novak-Bilić G, Lugović-Mihić L, **Pap N**, Vučić M, Stanić-Duktaj S. Contact dermatitis as a result of complex pathogenetic pathways. Lib Oncol 2018;46(Suppl 1):69. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**
- Novak-Bilić G, Stanić Duktaj S, **Pap N**, Bradamante M, Lugović-Mihić L. How to manage patients with cutaneous pseudolymphoma? Lib Oncol 2018;46(Suppl 1):70. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**

- Meštrović- Štefekov J, **Pap N**, Lugović-Mihić L, Novak-Bilić G, Kuna M. The role of psychological stress in atopic dermatitis. 6. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem, Pula, 4.-7. listopad 2018. Poster prezentacija. P4. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**
- Artuković M, Lugović-MIhić L, Kušetlaga J, **Pap N**, Tošić M. DRESS syndrome to ciprofloxacin: a case report. 6. kongres hrvatskih dermatovenerologa s međunarodnim sudjelovanjem, Pula, 4.-7. listopad 2018. Poster prezentacija. P18. **→SAŽETAK/POSTER PREZENTACIJA → PREZENTIRAJUĆI AUTOR**

**PRILOG 1**

| Stres | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Nikada | Gotovo nikada | Ponekad | Prilično često | Vrlo često |
| STR_01 | Koliko često ste se u posljednih mjesec dana osjećali uznemireno zbog nečega neočekivanoga što se dogodilo? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_02 | Koliko često ste u posljednjih mjesec dana osjećali da ne uspijevate kontrolirati važne stvari u svom životu? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_03 | Koliko često ste se u posljednjih mjesec dana osjećali nervozno i "pod stresom"? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_04 | Koliko često ste u posljednih mjesec dana osjećali da ste sposobni nositi se sa svojim osobnim problemima? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_05 | Koliko često ste u posljednih mjesec dana osjećali da se stvari odvijaju u Vašu korist? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_06 | Koliko ste često u posljednih mjesec dana primijetili da se ne uspijevate nositi sa svim zadacima koji su pred Vama? toliko da ih ne možete savladavati? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_07 | Koliko često ste u posljednih mjesec dana osjećali da uspijevate kontrolirati neugodne smetnje u svom životu? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_08 | Koliko često ste se u posljednjih mjesec dana osjećali da uspješno vladate situacijom? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_09 | Koliko često ste se u posljednjih mjesec dana razljutili zbog stvari koje niste mogli kontrolirati? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| STR_10 | Koliko često ste u posljednih mjesec dana osjećali da se problemi nagomilavaju? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

# PRILOG 2

## DERMATOLOŠKI INDEKS KVALITETE ŽIVOTA

DLQI

Matični broj bolesnika (Bolnički): Datum: Rezultat: ☐

Ime: Dijagnoza:

Adresa:

**Cilj ovog upitnika je odrediti koliko je problem s Vašom kože utjecao na Vaš život TIJEKOM PROTEKLOG TJEDNA. Molimo Vas da označite po jedan kvadratić za svako pitanje.**

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1. | Tijekom proteklog tjedna, koliko Vas je koža **svrbjela**, **bila osjetljiva**, **boljela** ili **peckala**? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | |
| 2. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri ste se zbog stanja Vaše kože osjećali **neugodno** ili **upadljivo?** | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | |
| 3. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vas je stanje Vaše kože ometalo pri odlaženju u **kupovinu** ili u održavanju Vašeg **doma** ili **vrta?** | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| 4. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože utjecalo na **odabir odjeće** koju ste nosili? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| 5. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri je stanje Vaše kože utjecalo na Vaše **društvene** ili **slobodne** aktivnosti? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| 6. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je stanje Vaše kože otežalo bavljenje **sportom**? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| 7. | Tijekom proteklog tjedna, je li Vas stanje Vaše kože **sprječavalo** u **radu** ili **učenju**? | Da<br>Ne | ☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| | Ako je odgovor "Ne", u kojoj mjeri Vam je tijekom proteklog tjedna stanje Vaše kože bilo problem pri **obavljanju posla** ili pri **učenju**? | Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐ | |
| 8. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je Vaša koža stvarala probleme u odnosu s **partnerom** ili s nekim od Vaših **bliskih prijatelja** ili **rođaka**? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| 9. | Tijekom proteklog tjedna, u kojoj mjeri Vam je stanje Vaše kože uzrokovalo neke **seksualne poteškoće**? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |
| 10. | Tijekom proteklog tjedna, koliki problem Vam je predstavljalo **liječenje** Vaše kože, primjerice tako da Vam je stvaralo nered u kući ili Vam oduzimalo vrijeme? | Vrlo mnogo<br>Mnogo<br>Malo<br>Nimalo | ☐<br>☐<br>☐<br>☐ | Ne odnosi se na moj slučaj ☐ |

**Molimo Vas da provjerite da li ste odgovorili na SVAKO pitanje. Hvala Vam.**

**PRILOG 3**

ActaDV Acta Dermato-Venereologica ActaDV

*Supplementary material to article by A. Carlsson et al. "Scoring of Hand Eczema: Good Reliability of Hand Eczema Extent Score HEES)"*

**Appendix S1. Hand Eczema Extent Score (HEES).**

## Hand eczema assessment form

Sex: Male ❑ Female ❑ Age: …….. years

Mark an **X** in the box where you see any form of skin changes on the hands.

On the back of the form there are diagrams, which name the parts of the hand.

**Right hand**

| | Entire area = more than 2/3 | Part of the area = less than 2/3 |
|---|---|---|
| Back of hand | ❑ | ❑ |
| Palm | ❑ | ❑ |

| | Back of finger | Side of finger | Underside of finger | Finger tip | Nail changes |
|---|---|---|---|---|---|
| Thumb | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Index finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Middle finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Ring finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Little finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |

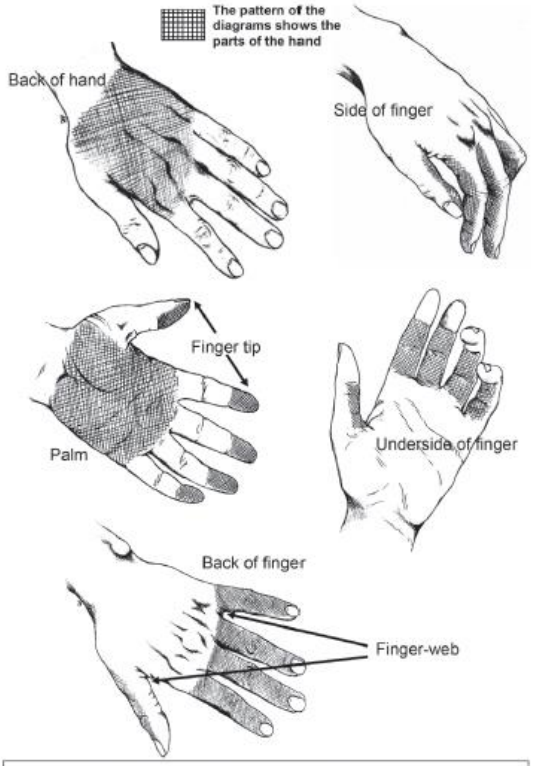
| | | |
|---|---|---|
| Finger-web between …. | Thumb and index finger | ❑ |
| | Index finger and middle finger | ❑ |
| | Middle finger and ring finger | ❑ |
| | Ring finger and little finger | ❑ |

**Left hand**

| | Entire area = more than 2/3 | Part of the area = less than 2/3 |
|---|---|---|
| Back of hand | ❑ | ❑ |
| Palm | ❑ | ❑ |

| | Back of finger | Side of finger | Underside of finger | Finger tip | Nail changes |
|---|---|---|---|---|---|
| Thumb | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Index finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Middle finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Ring finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |
| Little finger | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ | ❑ |

| | | |
|---|---|---|
| Finger-web between …. | Thumb and index finger | ❑ |
| | Index finger and middle finger | ❑ |
| | Middle finger and ring finger | ❑ |
| | Ring finger and little finger | ❑ |




- **Back of finger** includes the cuticle and the area around the nail
- **Underside of finger** is the area between the palm and the last finger joint
- **Finger tip** is the area from the last joint to the tip of the finger
- **Nail changes** means only changes on the nail itself