

# Imunohistokemijska izraženost cd44 u kontaktnom alergijskom i iritativnom dermatitisu u korelaciji s razvojem kliničke slike

---

**Novak-Bilić, Gaby**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2018**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:278075>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial 3.0 Unported / Imenovanje-Nekomercijalno 3.0](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-04**



*Repository / Repozitorij:*

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Gaby Novak-Bilić

**IMUNOHISTOKEMIJSKA IZRAŽENOST  
CD44 U KONTAKTNOM ALERGIJSKOM  
I IRITATIVNOM DERMATITISU U  
KORELACIJI S RAZVOJEM  
KLINIČKE SLIKE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2018.



Sveučilište u Zagrebu

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Gaby Novak-Bilić

**IMUNOHISTOKEMIJSKA IZRAŽENOST  
CD44 U KONTAKTNOM ALERGIJSKOM  
I IRITATIVNOM DERMATITISU U  
KORELACIJI S RAZVOJEM  
KLINIČKE SLIKE**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

izv. prof. dr. sc. Liborija Lugović Mihić

izv. prof. dr. sc. Majda Vučić

Zagreb, 2018.



Sveučilište u Zagrebu

UNIVERSITY OF ZAGREB  
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Gaby Novak-Bilić

**Immunohistochemical expression of  
CD44 in allergic contact and irritant  
dermatitis and correlation with  
development of clinical picture**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Assoc. Prof. Liborija Lugović Mihić, MD, PhD

Assoc. Prof. Majda Vučić, MD, PhD

Zagreb, 2018.

Istraživanje je bilo prospektivnog tipa. Provedeno je na Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice te na Kliničkom zavodu za patologiju „Ljudevit Jurak“ KBC-a Sestre milosrdnice.

Mentorice: izv. prof. dr. sc. Liborija Lugović Mihić

izv. prof. dr. sc. Majda Vučić

Željela bih se zahvaliti svima koji su pomogli u izradi ove disertacije.

Tijekom istraživanja i pisanja ovog rada mislila sam da je to najteži dio, ali sada kada je sve to iza mene i kada pišem ovu zahvalu shvatila sam koliko je teško izabrati riječi kojima bih se željela zahvaliti svim dragim ljudima, prijateljima i kolegama koji su mi na tom putu pomogli.

Na prvom mjestu zahvalnost dugujem mojim mentoricama, prof.dr.sc. Liboriji Lugović Mihić i prof.dr.sc. Majdi Vučić na pomoći, poticanju, strpljenju i savjetima tijekom izrade ove disertacije.

Veliko hvala mojim kolegicama i medicinskim sestrama iz Dermatovenerološke jedinice OB Zabok i bolnice hrvatskih veterana koje su imale razumjevanja za mene, moje izostanke, a posebno medicinskoj sestri Sanjici Goluban koja se hrabro nosila s mojim promjenama raspoloženja.

Neizmjernu zahvalnost dugujem mojoj obitelji na ljubavi, bezuvjetnoj vjeri i podršci. Hvala vam što ste me uvijek podržavali i vjerovali u mene.

## Sažetak

U patogenezi kontaktnog dermatitisa (KD) sudjeluju brojni čimbenici, među kojima se navodi i CD44. U prijašnjim istraživanjima na animalnom modelu pokazalo se da bi CD44 mogao sudjelovati u usmjeravanju upalnih stanica u lezije kože tijekom razvoja upale u alergijskom i iritativnom KD-u pa smo istražili izraženost CD44 kod bolesnika s KD-om i dobivene rezultate usporedili s težinom kliničke slike.

Istraživanje je obuhvatilo 50 bolesnika s alergijskim KD-om i 50 bolesnika s iritativnim KD-om. Kod njih je učinjena biopsija kožnih lezija i epikutani (*patch*) test na kontaktne alergene te su praćeni tijekom godine dana, nakon čega je putem upitnika provedena anketa o težini bolesti i pratećim smetnjama. Uzeti bioptati kože bolesnika s KD-om uspoređivani su s uzorcima bolesnika s vulgarnom psorijazom i kontrolnom skupinom uzoraka zdrave kože (dobivenih od resekcijskih rubova ekscidiranih nevusa).

U svim je istraživanim skupinama imunohistokemijskom analizom određivana ekspresija CD44 primjenom svjetlosnog mikroskopa, a dobiveni rezultati prikazani su semikvantitativno (određivanjem postotka imunoreaktivnih stanica u epidermisu i dermisu te na limfocitima).

Rezultati su pokazali statistički značajne razlike između ispitivanih skupina ( $P < 0,001$ ) i najveću izraženost CD44 u iritativnom KD-u, nakon čega slijedi alergijski KD, a potom vulgarna psorijaza i kontrolna skupina. Usporedba težine bolesti (alergijskog KD-a i iritativnog KD-a) s izraženosti CD44 (u epidermisu, dermisu i na limfocitima u bioptatima kože bolesnika) nije pokazala statistički značajnu razliku između tih dviju skupina. Međutim, alergijski KD manifestirao se težom kliničkom slikom od iritativnog KD-a ( $P < 0,001$ ), čemu su najviše pridonijeli veća zahvaćenost kože ( $P = 0,006$ ), češće korištenje sustavne kortikosteroidne terapije ( $P = 0,026$ ), izloženost alergenima ( $P < 0,001$ ) i veće ograničenje bolesnika u svakodnevnom radu ( $P = 0,001$ ). Značajno povećana ekspresija CD44 u iritativnom KD-u mogla bi biti povezana s ulogom CD44 u funkciji i očuvanju kožne barijere tih bolesnika.

Ova problematika zahtijeva daljnja istraživanja patogeneze bolesti te otkrivanje novih terapijskih mogućnosti kako bi se takvim bolesnicima poboljšala kvaliteta života i omogućilo normalno obavljanje svakodnevnih aktivnosti.

**Ključne riječi:** CD44, imunohistokemija, alergijski kontaktni dermatitis, iritativni kontaktni dermatitis

## Summary

A number of factors contribute to the pathogenesis of contact dermatitis (CD), including CD44. Previous research on an animal model has shown that CD44 could contribute to directing inflammatory cells into skin lesions during development of an inflammation present in allergic and irritant CD. Therefore, we have researched the expression of CD44 in patients with CD and compared the results with the disease severity of affected patients. Our research involves 50 patients with allergic CD and 50 patients with irritant CD. Patients of both groups have undergone biopsies of skin lesions and a patch test to contact allergens and were subsequently observed for a year, after which a questionnaire was performed and enquired about disease severity and accompanying issues. The samples collected during skin biopsies of patients with CD were compared to samples acquired from patients suffering from psoriasis vulgaris and a control group of samples of healthy skin (acquired by excising tissues surrounding the nevi). In all researched groups, the expression of CD44 was determined by immunohistochemical analysis using an optical microscope, after which the results were visualised semiquantitatively (by determining the percentage of immunoreactive cells in the epidermis, dermis, and lymphocytes).

The results have shown statistically-significant differences between the researched groups ( $P < 0.001$ ) and the highest expression of CD44 in irritant CD, followed by allergic CD, psoriasis, and finally, the control group. Comparing disease severity (of allergic and irritant CD) with the expression of CD44 (in the epidermis, dermis, and lymphocytes of patients' skin samples) has not shown a statistically-significant difference between the two groups. However, patients suffering from allergic CD have reported a higher severity of symptoms compared to those suffering from irritant CD ( $P < 0.001$ ). The main causes of this are greater areas of affected skin ( $P = 0.006$ ), more frequent systemic corticosteroid treatments ( $P = 0.026$ ), exposure to allergens ( $P < 0.001$ ), and greater impairment of patients in everyday activities ( $P = 0.001$ ). Significantly elevated expression of CD44 in irritant CD might be related to the function of CD44 in maintaining and preserving a skin barrier in affected patients. The mentioned problematics demand further research into disease pathogenesis and discovering new treatment options to improve patients' quality of life and enable them to carry out everyday tasks.

**Key words:** CD44, immunohistochemical analysis, allergic contact dermatitis, irritant contact dermatitis



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Etiopatogenetska obilježja KD-a .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Klinička slika .....</b>	<b>8</b>
<b>1.3. Dijagnostika i terapija .....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Mogućnosti primjene imunohistokemijskih metoda dijagnostike         kod upalnih bolesti kože .....</b>	<b>15</b>
<b>2. SVRHA RADA.....</b>	<b>Pogreška! Knjižna oznaka nije definirana.19</b>
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>21</b>
<b>4. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1. Epikutano testiranje .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2. Patohistološka i imunohistokemijska obrada .....</b>	<b>28</b>
<b>4.3. Upitnik za bolesnike .....</b>	<b>30</b>
<b>4.4. Statističke metode .....</b>	<b>31</b>
<b>5. REZULTATI.....</b>	<b>32</b>
<b>5.1. Slikovni prikaz imunohistokemijskog bojenja uzoraka .....</b>	<b>33</b>
<b>5.2. Statistička analiza .....</b>	<b>41</b>
<b>5.3. Grafički prikaz rezultata imunohistokemijske analize.....</b>	<b>42</b>
<b>6. RASPRAVA.....</b>	<b>66</b>
<b>7. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>77</b>
<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>79</b>
<b>9. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>88</b>

## POPIS KRATICA

ABC *avidin-biotin-complex*

ACD *advanced cell diagnostics* = napredna stanična dijagnostika

AD atopijski dermatitis

APC *antigen presenting cells* = antigen prezentirajuće stanice

CD *contact dermatitis* = kontaktni dermatitis

CTL citotoksični limfociti

DTH *delayed hypersensitivity reaction* = kasna alergijska reakcija

ECM ekstracelularni matriks

EGF *epidermal growth factor* = epidermalni čimbenik rasta

ELAM *endothelial leukocyte adhesion molecule* = endotelna leukocitna adhezijska molekula

HA *hyaluron acid* = hijaluronska kiselina

HGF *hepatocyte growth factor* = čimbenik rasta hepatocita

ICAM *intercellular adhesion molecule* = intercelularna adhezijska molekula

ICOS *inducibile T-cell costimulators*

IFN- $\gamma$  interferon-gama

Ig imunoglobulin

IL interleukin

KD kontaktni dermatitis

LC *langerhans cell* = Langerhansova stanica

LFA *lymphocyte function antigen* = limfocitni funkcijski antigen

LSAB *labeled streptavidin biotin*

MCP *monocyte chemoattractant protein* = monocitni kemoatraktantni protein

MH matriks hijaluronan

MHC *major histocompatibility complex* = glavni kompleks histokompatibilnosti

PD-1 *programmed cell death protein- 1*

SZO Svjetska zdravstvena organizacija

pMHC peptid neoantigena užljebljen u MHC kompleks

RANTES *regulated on activation normal T cell expressed and secreted* = regulirano aktiviranje normalnih T stanica ekspresijom i sekrecijom

TEWL *transepidermal water loss* = transepidermalni gubitak vode

TJ *tight junctions* = čvrste veze

TNF- $\alpha$  *tumor necrosis factor-alfa* = tumor nekrotizirajući čimbenik alfa

VCAM *vascular cell adhesion molecule* = vaskularna stanična adhezijska molekula

VEGF *vascular endothelial growth factor* = vaskularni endotelni čimbenik rasta

VLA *very late integrin* = vrlo kasni integrin

## **1. UVOD**

---

Alergijski i iritativni kontaktni dermatitis (KD) relativno su česte dermatoze u čijoj se diferencijaciji ističe obilježje da u patogenezi iritativnog KD-a ne sudjeluju imunosne reakcije i nije potrebno prethodno izlaganje nekoj tvari te da sličnu reakciju ima većina ispitanika izloženih određenoj tvari (1).

Kod iritativnog KD-a za nastanak promjena odgovorna je izloženost kože nekoj tvari (i u malim koncentracijama), pri čemu zbog ponavljanih utjecaja dolazi do njezina oštećenja i kumuliranja učinka. Takve promjene mogu postupno dovesti do kroničnog oštećenja kože, a tipično je da su najčešće lokalizirane (ne šire se).

Kod alergijskog KD-a nastaje imunosna reakcija pokrenuta senzibilizacijom na neku tvar (alergen) posredovanjem T-limfocita, uz prethodnu izloženost toj tvari. Najvažniji čimbenik u diferencijaciji tih dvaju tipova kontaktnih dermatitisa je provođenje epikutanog testa kojim se dokazuje alergijska reakcija tipa IV.

Alergijski KD (akutni i kronični) obuhvaća 5-15% svih dermatoza (1). Znatno dio KD-a su profesionalni KD-i. Postoje podaci da se u industrijski razvijenim zemljama više od 30% svih profesionalnih bolesti javlja na koži, pri čemu je u više od 90% slučajeva riječ o iritativnom i alergijskom KD-u (2).

### **1.1. Etiopatogenetska obilježja KD-a**

Kod alergijske kontaktne reakcije postoje četiri podvrste reakcija s obzirom na subpopulaciju T-limfocita koje mogu sudjelovati u reakcijama: pomoćničke stanice tipa 1 (IVa), pomoćničke stanice tipa 2 (IVb), citotoksični T-limfociti (IVc) te T-limfociti koje luče IL-8 (IVd) (3,4). Imunosna reakcija tipa IV događa se na kemijski reaktivne haptene koji često nastaju iz nestabilnih tvari (prohaptena) koji se u epidermisu razgrađuju te se elektrofilni ostatci kovalentno vežu na nukleofilne grupe proteina kože, nakon čega se javljaju promjene na koži (1,5).

Proučavajući negativan utjecaj kontakta s različitim tvarima pokazalo se da kontaktne promjene na koži najčešće potiču lateks, zaštitna oprema, sapuni i sredstva za čišćenje, zatim smole, akrilati itd. (6-8). Najčešće pozitivne reakcije u epikutanom testu su na metale, mirise, lokalne antibiotike, kemikalije u frizerskim setovima, lokalne kortikosteroide, ljepila i plastiku (9). Također se pokazalo da vrsta alergena ovisi i o lokalizaciji promjena (10-12). Brojne studije pokazale su da je od 20 do 40% pozitivnih epikutanih testova pozitivno na nikal (13-18).

Postoje spoznaje da se učestalost alergijskog KD-a povećava s dobi. Ponavljajuća i prolongirana izloženost te potencijalna osjetljivost na neke tvari dovode do povećanja razvoja alergijskog KD-a u odrasloj dobi (19). Među kontaktnim alergenima ističu se različite tvari, a osobito često metali, zbog čega su i najčešće ispitivani.

Patogeneza alergijskog KD-a je složena (20-23). Patogenetski soli metala se ne vežu kovalentno, već slabim interakcijama tvore komplekse s proteinima kože. Hapteni se mogu direktno vezati i na peptide koji se već nalaze unutar žlijeba molekula glavnog sustava histokompatibilnosti (engl. *major histocompatibility complex*) (MHC) razreda I i II. Prilikom prvog epikutanog kontakta (senzibilizacijska faza) hapteni stimuliraju keratinocite na izražavanje adhezijskih molekula, kao što su intercelularne adhezijske molekule (engl. *intercellular adhesion molecule*) (ICAM-1), proupalni citokini, interleukini (IL-1- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), tumor nekrotizirajući čimbenik alfa (engl. *tumor necrosis factor-alfa*) (TNF- $\alpha$ ), IL-6 i kemokin (IP-10), monocit kemoatraktant protein (engl. *monocyte chemoattractant protein*) (MCP-1), regulirano aktiviranje normalnih T-limfocita ekspresijom i sekrecijom (engl. *regulated on activation normal T cell expressed and secreted*) (RANTES, CCL18) (24,25). Takav okoliš potiče epidermalne Langerhansove stanice (engl. *langerhans cell*) (LC) da preuzimaju neoantigen, prerađuju ga, izražavaju molekule MHC razreda I i II te migriraju u regionalne limfne čvorove gdje ga predočavaju naivnim T-limfocitima. Potom LC-e, prvenstveno u sklopu MHC razreda I, predočavaju antigen CD8<sup>+</sup> limfocitima (5).

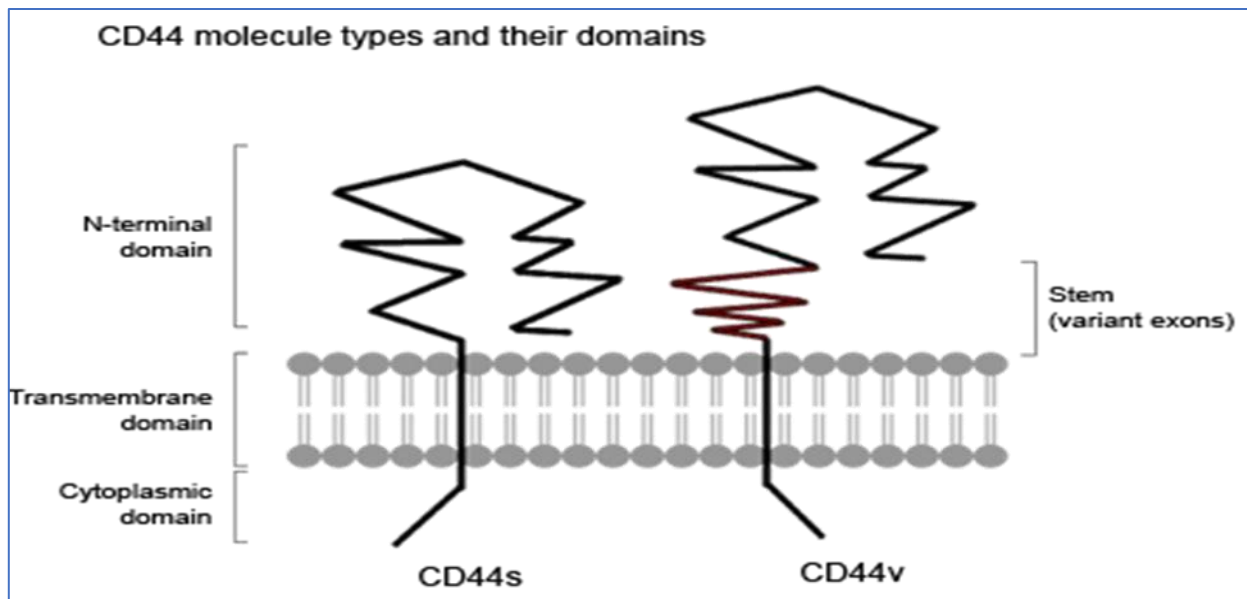
Pokazalo se da keratinociti luče proupalne citokine i kemokine koji aktiviraju, uz epidermalne LC-e, i vaskularne endotelne stanice u dermisu. Pritom endotelne stanice izražavaju adhezijske molekule i omogućavaju ekstravazaciju efektorskih stanica, tj. senzibiliziranih T-limfocita (CD8, Tr1), mastocita, bazofila i imunocita (26).

Prilikom ponovnog kontakta s istim haptenom LC-e kao antigen prezentirajuće stanice (engl. *antigen presenting cells*) (APC) u dermisu predočavaju neoantigen memorijskim CD8<sup>+</sup> limfocitima. Ovi CD8<sup>+</sup> limfociti poprimaju efektorsku citotoksičnu limfocitnu (CTL) funkciju, vežu se na keratinocite koji izražavaju pMHC I (peptid neoantigena užlijebljen u molekulu MHC I) i luče interferon-gama (IFN- $\gamma$ ). Tijekom tog procesa IFN- $\gamma$  što ga luče CTL-i i aktivirani makrofagi (histiociti) potiče ekspresiju molekula Fasa na keratinocitima te ovaj veže FasL koji izražavaju CTL-i, što dovodi do apoptoze u konačnici. Uz to, IFN- $\gamma$  potiče degranulaciju mastocita i bazofila koji oslobađaju litičke medijatore te vazodilatatore (histamin) i kemokine koji omogućavaju daljnju infiltraciju stanica i razvoj upale (26). Za

razliku od neutrofila, makrofazi ne odumiru lokalno već u roku od nekoliko dana migriraju u limfne čvorove, izražavaju kostimulacijske molekule (CD80/86) i ondje predočavaju antigenske peptide limfocitima. Važno je da limfociti izražavaju kasne integrine (engl. *very late integrin*) (VLA) i također "*homing*" receptore (CD44), koji predstavljaju treći val infiltracije i pokreću adaptivnu imunoreakciju (5,27).

S obzirom na to da u toj patologiji još ima dosta nepoznanica, važna su istraživanja provedena na eksperimentalnim životinjama koja su upozorila na potencijalnu ulogu CD44 kod alergijskog KD-a (28). Do sada je poznato da je CD44 antigen po strukturi glikoprotein na staničnoj površini, koji je uključen u međustanične interakcije, stanične adhezije i migracije. Kod ljudi je CD44 kodiran genom na kromosomu 11 (Slika 1.) (29).

Pokazalo se da CD44 sudjeluje u različitim staničnim funkcijama, uključujući aktivaciju limfocita, hematopoezu i metastaziranje tumora. Utvrđeno je i da CD44 može stupiti u interakciju s drugim ligandima (30). Za CD44 može se reći da je multistrukturalna i multifunkcionalna površinska molekula uključena u staničnu proliferaciju, staničnu diferencijaciju, staničnu migraciju, angiogenezu, predočavanje citokina, kemokina, čimbenika rasta prema odgovarajućim receptorima i prijanjanje proteaze na staničnu membranu te signal za stanično preživljavanje (31). Od njegovih ostalih važnijih obilježja može se navesti da je utvrđeno da je CD44 glavni stanični receptor za hijaluronat (Slika 2.) (32-34).

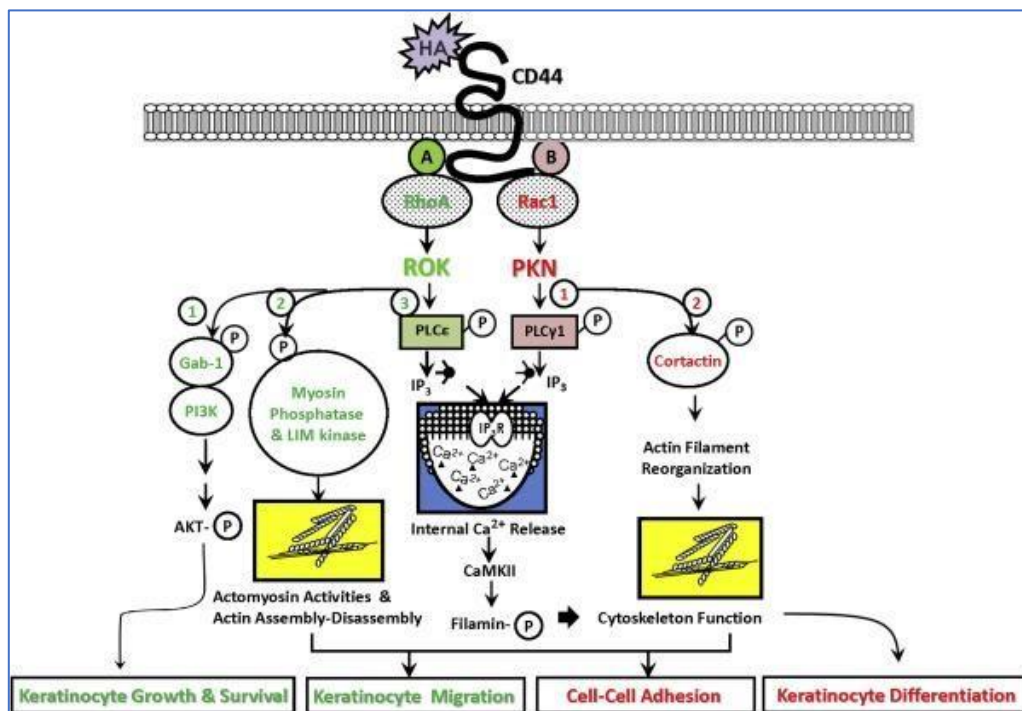


**Slika 1.** Molekula CD44 (441x277)

Preuzeto iz (slika s interneta)2009, (pristupljeno 5.8.2018.)

Dostupno: [www.atlasgeneticsoncology.org/CD44ID980CH11p13](http://www.atlasgeneticsoncology.org/CD44ID980CH11p13). (35).





**Slika 2.** Molekula CD44 s hijaluronatom (1595x1101)

Preuzeto iz (slika s interneta)2009, (pristupljeno 5.8.2018.)

Dostupno na: [www. core.ac.uk/19121919DOI:10.1016/ajpath.2014.03.010](http://www.core.ac.uk/19121919DOI:10.1016/ajpath.2014.03.010). (36).

Prema rezultatima istraživanja, u zdravoj koži je izraženost CD44 ograničena membranom stanica ekrinih žlijezda. Preraspodjela tih stanica CD44+ je asimetrična, s intenzivnijim bojenjem na dermalnoj strani i slabijim na luminalnoj strani stanice. Postoje spoznaje da je u koži koja je zahvaćena upalnim procesom ili neoplazmom vidljiva izraženost CD44 koja može biti na membrani keratinocita i na infiltriranim limfocitima u blizini tog procesa (37).

## 1.2. Klinička slika

Kod pojave **alergijskog** KD-a klinički se može razlikovati nekoliko faza. To su eritematozna faza (Slika 3.) (neoštro ograničeni eritem i edem kože), madidirajuća faza (Slika 4.) (karakterizirana erozijama i vlaženjem), krustozna faza (nastaju kruste nakon vlaženja) i na kraju skvamoza faza (obnavljanje rožnatog sloja) (1).

Klinički se alergijski KD može javljati na različitim lokalizacijama, osobito na koži šaka, te se može manifestirati kao akutni ili kronični oblik. Od općih simptoma izražen je svrbež, a u laboratorijskim nalazima u perifernoj krvi može se pojaviti eozinofilija.



**Slika 3.** Alergijski kontakti dermatitis izazvan tetovažom na koži potkoljenice - eritematozni stadij



**Slika 4.** Alergijski kontaktni dermatitis na koži šaka - madidirajuća faza

**Iritativni** KD nealergijski je oblik KD-a koji nastaje nakon kontakta kože s nekim iritansom ili toksičnom tvari. Kao i alergijski KD, iritativni KD može se javljati kao akutni i kronični oblik. Akutni iritativni KD nastaje kao posljedica izlaganja kože toksičnim agensima (npr. kiseline i lužine) koji oštećuju normalnu kožnu barijeru. U takvoj reakciji ne sudjeluju imunosni mehanizmi. Klinički se vidi eritem, vezikule koje mogu biti ispunjene krvavim sadržajem, pustule, erozije i kraste. Promjene na koži najčešće se javljaju ograničeno, na mjestu kontakta s iritansom ili toksičnom tvari. Jačina reakcije i pojava promjena ovise o duljini izlaganja agensu, količini i jačini samog agensa.

Kronični iritativni KD posljedica je duljeg izlaganja slabijim agensima odnosno iritativnim sredstvima koji dovode do oštećenja kožne barijere i upalnog odgovora, a klinički je najčešće vidljiva suhoća kože, lihenifikacija i deskvamacija (Slika 5.) (1,38,39).



**Slika 5.** Kronični iritativni kontaktni dermatitis na koži šaka

Osim promjena na koži, kod takvih se bolesnika često mijenja izgled i struktura noktiju, pri čemu je moguća *onyhodystrophia*. Ako su promjene nastale zbog izlaganja nekom jakom agensu, mogu se odvojiti i nokatne ploče, koje mogu biti udubljene. Također se na noktima mogu vidjeti Reel-Beauove brazde koja nastaje nakon akutnog oštećenja matriksa nokta, a tijekom rasta brazde se pomiču i polako nestaju (1).

### 1.3. Dijagnostika i terapija

Dijagnoza **akutnog iritativnog KD-a** postavlja se na temelju anamneze i kliničke slike.

Epikutani test na standardnu seriju alergena je negativan. Histološki se kod akutnog iritativnog KD-a opaža spongioza, iregularna akantozna, proširenje kapilara u subepidermalnom dermisu te perivaskularni infiltrat neutrofila i limfocita u dermisu (1).

Dijagnoza **kroničnog iritativnog KD-a** se postavlja na temelju anamneze i kliničke slike. Epikutani test na standardnu seriju alergena je negativan. Histološki nalaz je nespecifičan. Korisno je provođenje testa ispitivanja otpornosti prema alkalijama (test alkalne rezistencije) te mjerenje evaporacije kože (engl. *transepidermal water loss*) (TEWL) i određivanje pH kože (1).

Dijagnoza **akutnog alergijskog KD-a** se postavlja na temelju anamneze i kliničke slike te pozitivnog epikutanog testa na standardnu seriju alergena. Ponekad se primjenjuju i „ciljani alergeni“ karakteristični za pojedina zvanja. Histološki se kod alergijskog KD-a opaža limfocitni perivaskularni infiltrat, edem dermisa te spongioza i egzocitoza u epidermis (1).

Dijagnoza **kroničnog alergijskog KD-a** postavlja se na temelju kliničke slike i anamneze, a potvrđuje se epikutanom testom. Histološki nalaz je nekarakterističan (1).

Kod pojave KD-a, iritativnih ili alergijskih oblika, iznimno je važno izbjegavati kontakt s uzročnim alergenima ili škodljivim tvarima. Također treba upozoriti bolesnika da nosi zaštitne rukavice tijekom rada i kontakta s alergenom na koji je dokazana preosjetljivost ili tijekom izloženosti iritansima (kiselinama, lužinama, deterdžentima i drugim kemikalijama) s kojima pritom dolazi u kontakt.

U lokalnoj terapiji ponajprije se primjenjuju kortikosteroidne kreme i masti, a upotrebljavaju se i keratolitičke masti za uklanjanje ljusaka ako one dominiraju kliničkom slikom. Mogu se primjenjivati fluorirane i nefluorirane kortikosteroidne kreme i masti (na dlanove i tabane do nekoliko tjedana jer je manja resorpcija zbog rožnatog sloja), lokalnim kortikosteroidnim preparatima mogu se dodavati antibiotske masti koje su korisne zbog čestih sekundarnih infekcija i ragada (40). Jedna od terapijskih mogućnosti je i provođenje fotokemoterapije, (PUVA-krema terapija) (41).

Posljednjih nekoliko desetljeća postoji mogućnost primjene lokalnih imunomodulatora kojima se nastoji smanjiti upotreba kortikosteroidnih pripravaka, a time i prateće nuspojave. Važno je



naglasiti da je kontinuirano potrebno koristiti neutralnu lokalnu njegu koja koži vraća vlažnost i obnavlja je, čime se potiče njezina otpornost na vanjske utjecaje.

Osim lokalne terapije, katkad je klinička slika takva da zahtijeva sustavnu primjenu kortikosteroida i antihistaminika. U takvim slučajevima ponekad je potrebno hospitalizirati bolesnike radi praćenja krvne slike, elektrolita i šećera u krvi, krvnoga tlaka itd. (1).

Do sada nije osmišljena biološka terapija za bolesnike s KD-om (21).

#### **1.4. Mogućnosti primjene imunohistokemijskih metoda dijagnostike kod upalnih bolesti kože**

Imunohistokemijske metode važne su i korisne u dermatohistopatologiji. One omogućuju lokalizaciju specifičnih antigena u tkivu s pomoću ciljano usmjerenih protutijela. Prvi radovi vezani uz fluorescentno obilježena protutijela radi određivanja za lokalizaciju pneumokoknog antigena nastali su 1942. godine (42).

Protutijela su proteini iz skupine imunoglobulina (Ig) i najvažniji su dio u imunohistokemijskoj analizi tkiva. Postoji pet glavnih vrsta imunoglobulina (IgG, IgM, IgA, IgD i IgE).

Protutijela po vrsti mogu biti monoklonska i poliklonska.

Monoklonska protutijela specifično prepoznaju i vežu samo jedan tip epitopa. Ona nastaju od individualnog klona plazma stanica. Protutijela od istog klona stanica su imunokemijski identična i reagiraju s istim specifičnim epitopom na antigenu protiv kojeg su usmjerena. Za stvaranje monoklonskih protutijela koriste se miševi, pri čemu se, nakon imunogenog odgovora, izoliraju B-limfociti iz mišje slezene koji se zatim spajaju s mijelomskim stanicama da se dobije kultura stanica s pomoću koje se monoklonska protutijela proizvode u velikoj količini. Osobito su važni George Koehler, Cesar Milstein i Niels K. Jerne koji su 1975. izolirali prva monoklonska protutijela iz klonova stanica, a 1984. dobili su Nobelovu nagradu za fiziologiju i medicinu (43).

Poliklonska protutijela dobivaju se iz različitih stanica, tj. staničnih linija, i ona mogu prepoznati više epitopa nekog antigena. Vezanje protutijela u tkivu može se prepoznati preko signala koje daje obilježavanje protutijela fluorescirajućom tvari ili kromogenima.

Postoje direktna i indirektna imunohistokemijska metoda. Kod direktne upotrebljava se protutijelo koje je obilježeno fluorescirajućom tvari pa se tako opaža njegovo vezanje na neki epitop. Kod indirektna metode primjenjuje se sekundarno ili čak tercijarno protutijelo putem kojega se otkriva primarno protutijelo kojim se prethodno inkubiralo tkivo (44).

U početku se primjenjivala samo metoda ABC (*avidin-biotin-complex*). Njome se primarno protutijelo veže na ciljani antigen, a sekundarno protutijelo obilježeno biotinom poveznica je između primarnog protutijela i enzim-streptavidin kompleksa (enzim može biti ili peroksidaza ili alkalna fosfataza).

Streptavidin, derivat *Streptococcus avidini*, najnovija je zamjena za avidin. Streptavidin, kao i avidin, ima četiri vezna mjesta za biotin, ali, za razliku od njega, gotovo nema naboja [tj.

izoelektrična točka (pI) streptavidina je blizu nule, a avidina je 10] pa je onemogućeno elektrostatsko vezivanje s tkivom. Streptavidin ne sadržava ugljikohidratne skupine koje se mogu vezati na tkivne lektine, što može rezultirati nespecifičnim pozadinskim bojenjem (45,46).

Danas se primjenjuje i metoda (*labeled streptavidin biotin*) (LSAB). U obje metode (ABC i LSAB) jedno primarno protutijelo povezano je s mnogo molekula peroksidaze i upravo se zbog tog velikog omjera enzimskih molekula u odnosu na protutijelo znatno podiže osjetljivost u odnosu na direktnu metodu.

U novije se doba imunohistokemija razvila u snažno dijagnostičko sredstvo koje pruža dodatne informacije tijekom rutinske morfološke analize tkiva. Upotreba imunohistokemije omogućila je dobivanje važnih dijagnostičkih, prognostičkih i prediktivnih informacija nužnih za klasificiranje i diferenciranje pojedinih bolesti. Osim primjene u dijagnostici, imunohistokemija služi i za znanstveno-istraživačke svrhe kako bi se bolje razumjela raspodjela i lokalizacija biomarkera kao i ekspresija pojedinih proteina u različitim tkivima (47-49).

Histološki, ako se usporede alergijski i iritativni KD, uočavaju se blage razlike. Kod iritativnog KD-a vidi se umjerena spongioza, intracelularni edem, egzocitoza i širenje upalnog infiltrata u epidermis. Izraženiji je pleomorfizam (50). Smanjen je broj CD4+ LC-a. S druge strane, histološki se kod alergijskog KD-a uočava spongioza s mikrovezikularnom prevlasti i žarišna raspodjela upalnog infiltrata u epidermisu. Pustulacija je rijetka. U početku je smanjen broj CD4+ LC-a, a poslije se njihov broj povećava.

Imunohistokemijski se kod iritativnog KD-a i alergijskog KD-a ponajprije uočavaju CD4+ T limfociti i nešto CD8+ T-limfocita. U akutnoj je fazi na keratinocitima vidljiva povećana izraženost IL-2, ICAM-1 te HLA-DR (51-53).

U složenom patogenetskom procesu iznimno bi važna mogla biti molekula CD44. Poznato je da je u normalnoj, zdravoj ljudskoj koži CD44 biljeg izražen, kao i njegovi oblici CD44s, CD44v3- v4, v5, v6 i v9. Primjenom imunohistokemijske metode u epidermisu se mogu zapaziti svi oblici CD44, s najjačom ekspresijom u *stratum spinosum* i *stratum basale*, dok su u *stratum granulosum* i *stratum corneum* nereaktivni (54).

Važnu ulogu kod alergijskog i iritativnog KD-a u upalnim procesima u koži imaju i citokini. Uočava se različita ekspresija citokina kod alergijskog KD-a u odnosu na iritativni KD. Interleukin-2 (IL-2) i IFN- $\gamma$  imaju važnu ulogu u oba oblika upalne reakcije u koži. Ovi citokini nastaju od iritacijom oštećenih keratinocita, a sudjeluju u migraciji i aktivaciji upalnih stanica i pokretanju upalne reakcije (55). Studije *in vitro* pokazale su da je bojenje za IL-1 antagonist receptora važno kod alergijskog KD-a, gdje je osobito izražen u dermisu (u kasnijem stadiju alergijske reakcije), dok je kod iritativnog KD-a u upalnoj reakciji izraženiji IFN- $\gamma$  (56).

Postoje spoznaje da je u KD-u važan i citokin IL-9. To potvrđuje studija koja je provedena na uzorcima kožnih biopata dobivenih od bolesnika s pozitivnim epikutanim (patch) testom (57). Provedeni su PCR i imunohistokemijska analiza biopata bolesnika s pozitivnim epikutanim (patch) testom. Utvrđeno je da su kod alergijskog KD-a u lezijama povišeni citokini IFN- $\gamma$ , IL4, IL-17A, IL-9 i PU.1 u usporedbi s normalnom kožom. Imunohistokemijski su u biopatima kože bolesnika s KD-om utvrđene stanice PU.1+, CD3+, PU.1+ i CD4+. Dokazano je pritom da IL-9 ima direktan učinak na limfocite Th1 i sposobnost poticanja sekrecije IL-4, što ima regulatornu ulogu za limfocite Th1 u KD-u (57).

Pojedine su studije pokazale da u indukcijskoj fazi alergijskog KD-a ekspresija mRNA za IL-1 $\beta$  ima važnu ulogu, kao i povećanje ekspresije molekula MHC II na LC-u te induciranje adhezije različitih molekula. Takodolazi do indukcije molekula kao što su intercelularna adhezijska molekula (engl. *intercellular adhesion molecule-1*) (ICAM-1), vaskularna stanična adhezijska molekula (engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) (VCAM-1), endotelna leukocitna adhezijska molekula (engl. *endothelial leukocyte adhesion molecule-1*) (ELAM-1) te limfocitni funkcijski antigen-3 (engl. *lymphocyte function antigen-3*) (LFA-3) (24). Objavljeni su noviji rezultati studija kojima se potkrepljuje podatak da kod alergijskog KD-a u imunosnom odgovoru kože postoji razlika ovisno o odgovornom alergenu. Unatoč sličnim kliničkim promjenama, neovisno o vrsti alergena koji je pokrenuo reakciju, postoji i izrazita imunosna polarizacija karakterizirana različitim alergenima. Podaci iz niza studija pokazuju da različiti alergeni koji su dokazani u epikutanom (patch) testu pokreću različitu imunosnu aktivaciju. Tako nikal pokazuje najjaču imunosnu aktivaciju komponente Th1/Th17 i Th22, dok mirisi i boje pokreću jaču polarizaciju Th2, neki Th22, a slabije/manje Th1/Th17 (58).

Iz svega navedenog može se zaključiti da još postoje brojne nepoznanice u imunosnoj reakciji koja se događa kod KD-a. U spomenutim zbivanjima i utvrđivanju pojedinih čimbenika ove vrlo složene imunosne kaskade i njihove važnosti, ne samo kod KD-a nego i drugih upalnih dermatoza, istaknutu ulogu ima imunohistokemija i njezinom će se primjenom dobiti još mnogo odgovora u tom kompleksnom mozaiku.

## **2. SVRHA RADA**

---

---

Kod bolesnika s alergijskim KD-om uočava se povećana imunohistokemijska izraženost CD44 u kožnim lezijama u odnosu na druge ispitivane upalne dermatoze i zdravu kontrolu. Imunohistokemijska izraženost CD44 kod bolesnika s alergijskim KD-om korelira s težinom kliničke slike.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

---



1. Imunohistokemijskom analizom odrediti izraženost CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože šaka bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om u lezijama te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine.
2. Usporediti imunohistokemijsku izraženost CD44 u raznim oblicima upalnih dermatoza (alergijski KD, iritativni KD, vulgarna psorijaza) međusobno te u odnosu na zdravu kožu kontrolne skupine.
3. Usporediti dobivene rezultate imunohistokemijske izraženosti CD44 u koži s izraženošću kliničke slike bolesnika s alergijskim i iritativnim KD-om koja se pratila tijekom godine dana. U procjeni težine kliničke slike KD-a upotrebljavao se upitnik za bolesnike koji su zajedno ispunjavali specijalist dermatovenerolog i bolesnik/ispitanik godinu dana nakon biopsije kože.

## **4. MATERIJALI I METODE**

---

U ovo istraživanje prospektivnog tipa bili su uključeni bolesnici s tipičnom kliničkom slikom jedne od navednih dermatoza (alergijski KD i iritativni KD) koji su liječeni u Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice.

Bolesnike su pregledali specijalisti dermatovenerolozi i zatim su odgovarajuće obrađeni. Iz studije su isključeni oni s dokazanom gljivičnom infekcijom (mikološkom obradom bila je isključena gljivična infekcija) i bolesnici s kliničkom slikom drugih dermatoza na koži šaka.

#### **4.1. Epikutano testiranje**

Kod bolesnika s KD-om koji su bili uključeni u istraživanje provedeno je epikutano (patch) testiranje na standardnu seriju alergena u Ambulanti za alergologiju KBC-a Sestre milosrdnice prema smjernicama (Slika 6.) (59). Standardni set obuhvaća sljedeće tvari: kalij dikromat (0,5%), kobalt klorid (1,0%), nikal sulfat (5,0%), formaldehid (1,0%), ursol(0,5%), peruvijanski balzam (25,0%), epoksidne smole (1,0%), kolofonij (20,0%), bijeli živin precipitat (10,0%), antioksidans za gumu (0,1%), smjesu dodataka za gumu (2,0%) / merkaptospojeve (2,0%), smjesu dodataka za gumu / tiuram spojeve (1,0%), smjesu dodataka za gumu / karbamate (3,0%), katran drvenog ugljena (12,0%), smjesu parabena (15,0%), neomycin sulfat (20,0%), girodal (10,0%), sumporni precipitat (10,0%), smjesu mirisa (8,0%), anestezin (5,0%) lanolin (30,0%), timerosal (0,1%), quaternium (1,0%), deterdžent za pranje posuđa (2,0%), deterdžent za pranje rublja (2,0%), sredstvo za čišćenje - I (2,0%), sredstvo za čišćenje - II (2,0%), fenil-živine soli (0,01%) te kontrolu vazelinom.

Ovisno o anamnestičkim podacima o radnom mjestu, dodatnim suspektnim tvarima i profesionalnoj ekspoziciji, epikutani test proširen je dodatnim alergenima.

Test se očitava nakon 48 i 72 sata te nakon 7 dana. (Tablica 1.) (Slika 7.)

**Tablica 1.** Kriteriji za očitavanje epikutanog (patch) testa

<b>Reakcija</b>	<b>Promjene na koži</b>
negativna reakcija	nema promjena na koži
x	neznatni eritem, edem
xx	eritem, edem s pojedinačnim papulama i vezikulama
xxx	brojne papule i vezikule, pokoja bula i erozije, jako vlaženje
IR	iritativna reakcija

Uz pristanak koji su potpisali bolesnici, istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo KBC-a Sestre milosrdnice koje je pismeno izviješteno da je istraživanje u skladu s principima dobre kliničke prakse. Tako je na drugoj redovitoj sjednici, održanoj 24. ožujka 2016., navedeno povjerenstvo dalo suglasnost za provođenje ovog istraživanja (broj: EP-4433/15-14). Također je Etički odbor Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na sedmoj redovitoj sjednici održanoj 14. travnja 2016. odobrio provođenje istraživanja.



**Slika 6.** Epikutani test - prvo očitavanje reakcije nakon 48 sati



**Slika 7.** Pozitivna reakcija na nikal u epikutanom testu nakon 48 sati

## 4.2. Patohistološka i imunohistokemijska obrada

Nakon pristanka bolesnika liječenih u Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice s kliničkom slikom alergijskog i iritativnog KD-a učinjena je *punch* biopsija od 4 mm najizraženijih promjena kože šaka uz primjenu lokalne anestezije (lidocain 2%).

Za usporedbu su korišteni bioptati kože s histološkom slikom vulgarne psorijaze dobiveni od bolesnika liječenih u Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a Sestre milosrdnice. Primljeni uzorci kože obrađeni su i pohranjeni u parafinskoj arhivi na Kliničkom zavodu za patologiju „Ljudevit Jurak“ KBC-a Sestre milosrdnice.

Za kontrolnu skupinu uzeti su i uzorci kože bez promjena, dobiveni od resekcijskih rubova ekscidiranih nevusa, koji su, nakon provedene dijagnostičke analize, pohranjeni u parafinskoj arhivi na istom Zavodu.

Bioptički materijal obrađen je standardnom histološkom metodom koja uključuje fiksaciju tkiva u 10-postotnom puferiranom formalinu i uklapanje u parafinske blokove, rezanje na debljinu od 5µm, deparafiniziranje te bojenje standardnom hemalaun-eozin metodom. Uzorci kožnih bioptata alergijskog KD-a i iritativnog KD-a analizirani su u Kliničkom zavodu za patologiju „Ljudevit Jurak“ KBC-a Sestre milosrdnice.

U istraživanju se upotrebljavalo primarno protutijelo na CD44 (razrjeđivanje 1:50, Dako).

Imunohistokemijska analiza učinjena je metodom LSAB kao vizualizacijskim sustavom na automatiziranom uređaju za imunohistokemijsko bojenje DAKO TechMate TM (DAKO, Danska), uz primjenu streptavidin imunoperoksidaza protokola MSIP.

Rezultati imunohistokemijske analize za navedeni CD44 biljeg određivani su svjetlosnim mikroskopom i zatim prikazani semikvantitativno. Pri tome je određivan postotak imunoreaktivnih stanica u epidermisu i dermisu te na limfocitima procjenom na odabranom prerezu bioptata kože. (Tablica 2.)

Uzorci kože analizirani su podijeljeni u sljedeće skupine: 50 uzoraka kože zahvaćene alergijskim KD-om, 50 uzoraka kože zahvaćene iritativnim KD-om, 50 uzoraka kože zahvaćene vulgarnom psorijazom i 50 uzoraka zdrave (nepromijenjene) kože dobivene od resekcijskih rubova ekscidiranih nevusa koji su obrađeni i pohranjeni na Kliničkom zavodu „Ljudevit Jurak“.

Rezultati imunohistokemijskog određivanja ekspresije CD44 prikazani su semikvantitativno putem određivanja postotka imunoreaktivnih limfocita te reakcija u epidermisu i dermisu na način:

**Tablica 2.** Rezultati imunohistokemijske izraženosti CD44

0	Nema reakcije	
1	Slabo izražena reakcija	do 33% pozitivnih
2	Umjereno izražena reakcija	od 33% do 66% pozitivnih
3	Jako izražena reakcija	više od 66% pozitivnih



### 4.3. Upitnik za bolesnike

Godinu dana nakon biopsije bolesnici s KD-om koji su bili uključeni u istraživanje ispunjavali su upitnik, zajedno sa specijalistom dermatovenerologom, kako bi evaluirali težinu bolesti. Naime, te bolesnike pratili smo godinu dana, a upitnik smo osmislili sami jer kod KD-a nema specifičnih pokazatelja težine bolesti (engl. *score*) koji bi pokazao težinu bolesti tijekom duljeg razdoblja. Upitnik je obuhvatio najvažnije pokazatelje bolesti, imajući u vidu kliničku sliku, provođenje terapije, recidive i praćenje bolesnika tijekom godine dana.

#### Upitnik za bolesnike:

- Redni broj ispitanika, dob, spol;
- Alergije dokazane u epikutanom testu;
- Broj recidiva/pogoršanja unutar godinu dana;
- Koliko je kože tijekom zadnje godine dana bilo zahvaćeno promjenama;
- Izraženost promjena na koži šaka;
- Apliciranje lokalnih kortikosteroidnih pripravaka;
- Apliciranje lokalnih imunomodulatora;
- Sustavna kortikosteroidna terapija radi pogoršanja;
- Hospitalizacija radi pogoršanja na koži unutar godinu dana;
- Izloženost alergenima na koje je dokazana preosjetljivost;
- Izloženost jakim iritansima;
- Nošenje zaštitnih rukavica;
- Ograničavanje u svakodnevnom radu radi promjena na koži;

#### 4.4. Statističke metode

Statistička analiza provedena je pomoću statističkog programskog paketa STATISTICA ver. 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Za sve istraživane varijable napravljena je deskriptivna statistika.

Regresijska analiza (parametrijska i neparametrijska, ovisno o tipu raspodjele) upotrebljavala se za utvrđivanje povezanosti pojedinih varijabli, a Hi-kvadrat ili Fischerov egzaktni test za usporedbu kvalitativnih varijabli među podskupinama. Statistički značajnom smatra se vrijednost  $p < 0,05$ .

Za analizu snage testa za Hi-kvadrat i procjenu relativnog rizika, ako promatramo relativni rizik za povećanu CD44 ekspresiju u ispitivanim skupinama u odnosu na kontrolu (RR=2; 90postotnu snagu testa i razinu značajnosti  $\alpha=0,05$ ), u istraživanje je trebalo uključiti najmanje 44 ispitanika po skupini. S obzirom na mogućnost pogrešaka pri obradi uzoraka, najmanji broj ispitanika zaokružen je na 50 po skupini.

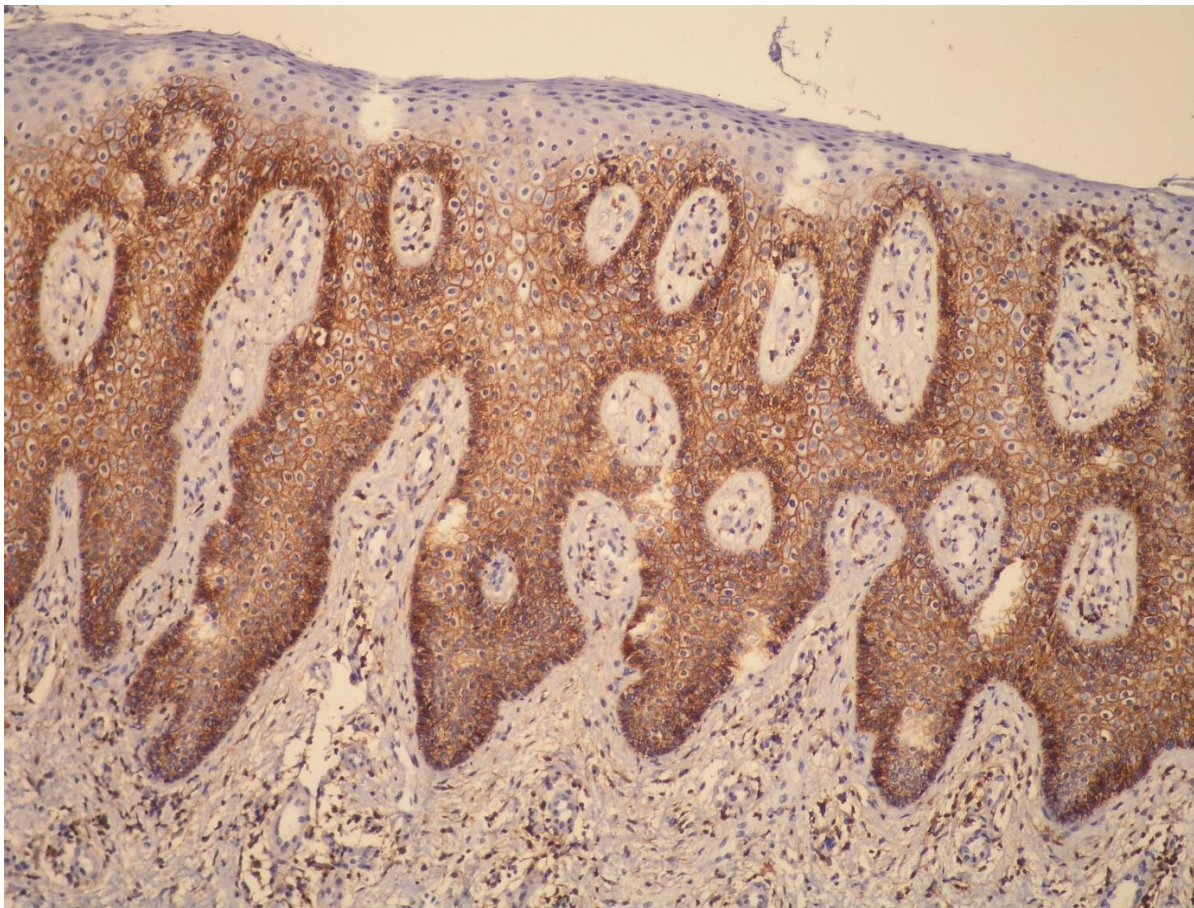
U analizi snage testa korištena je programska podrška G\*Power for Windows verzija 3.1.9.2.

## **5. REZULTATI**

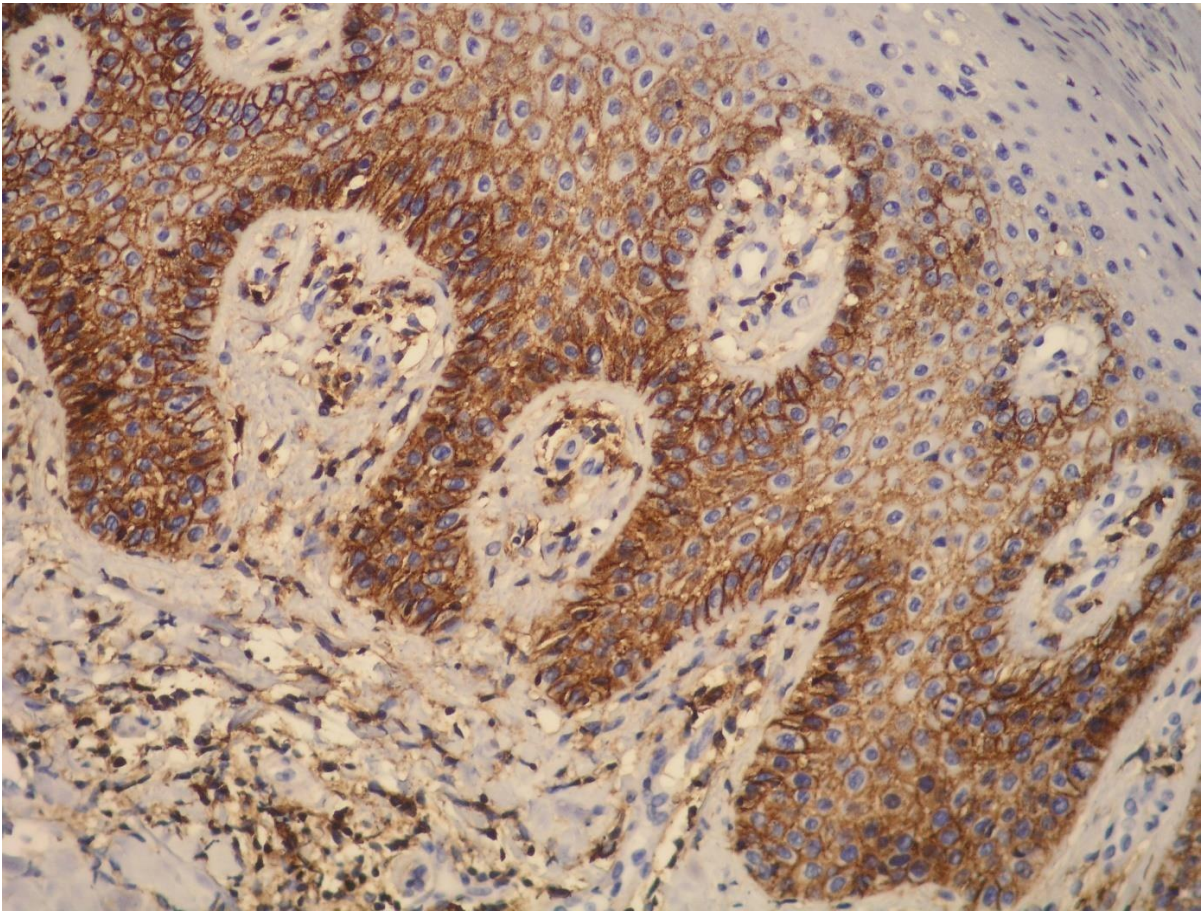
---

### 5.1.Slikovni prikaz imunohistokemijskog bojenja uzoraka

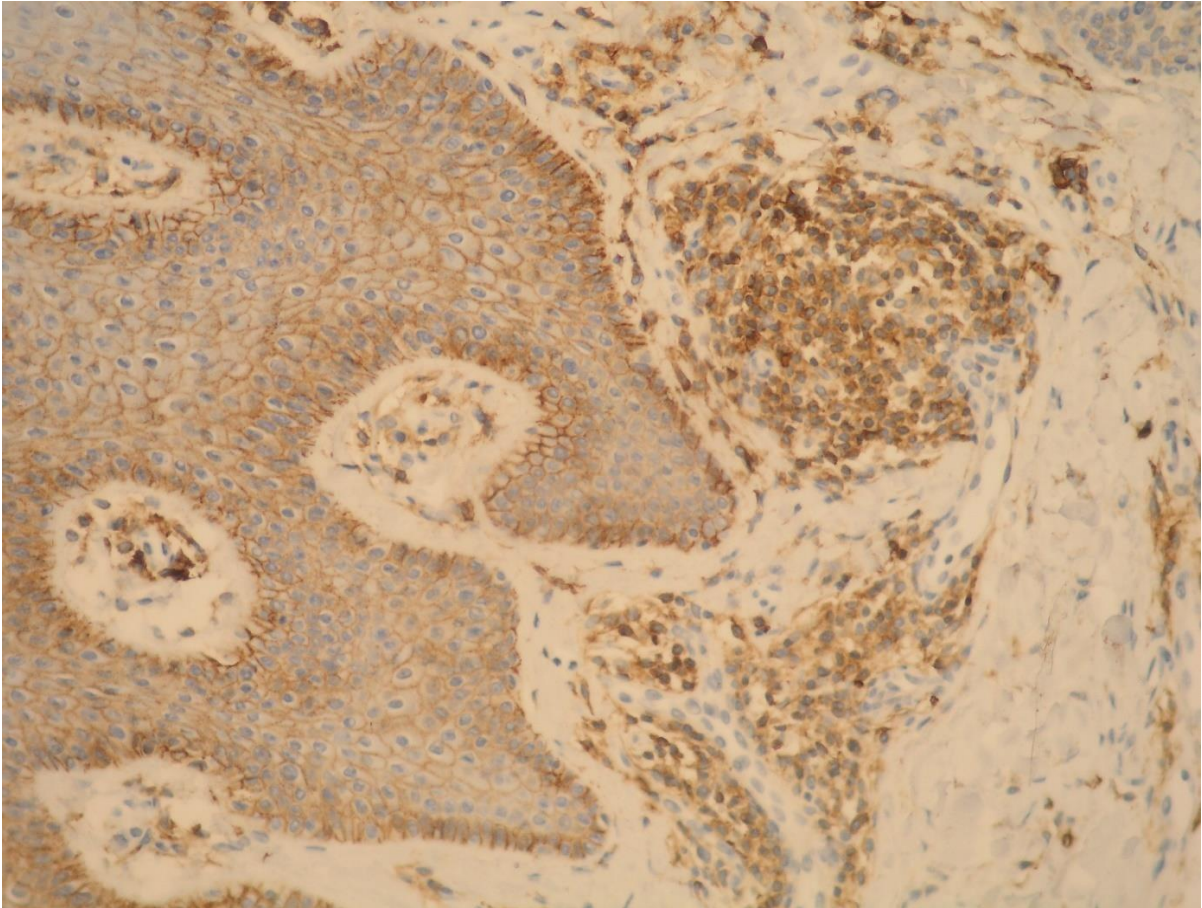
Rezultati imunohistokemijske analize na pregledanim prerezima prikazani su na slikama od 8. do 15.



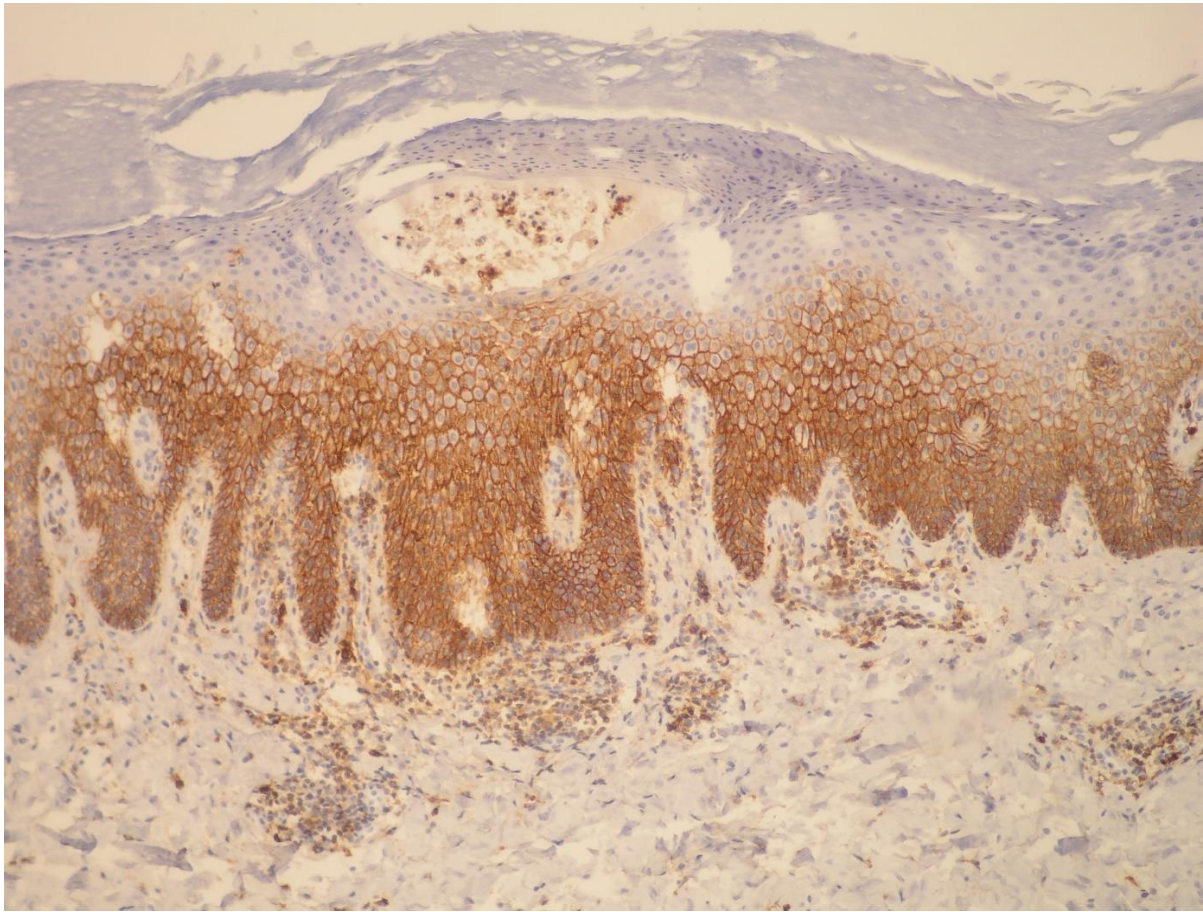
**Slika 8.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i suprabazalnim slojevima epidermisa te limfocitima unutar dermisa kod iritativnog KD-a (X200)



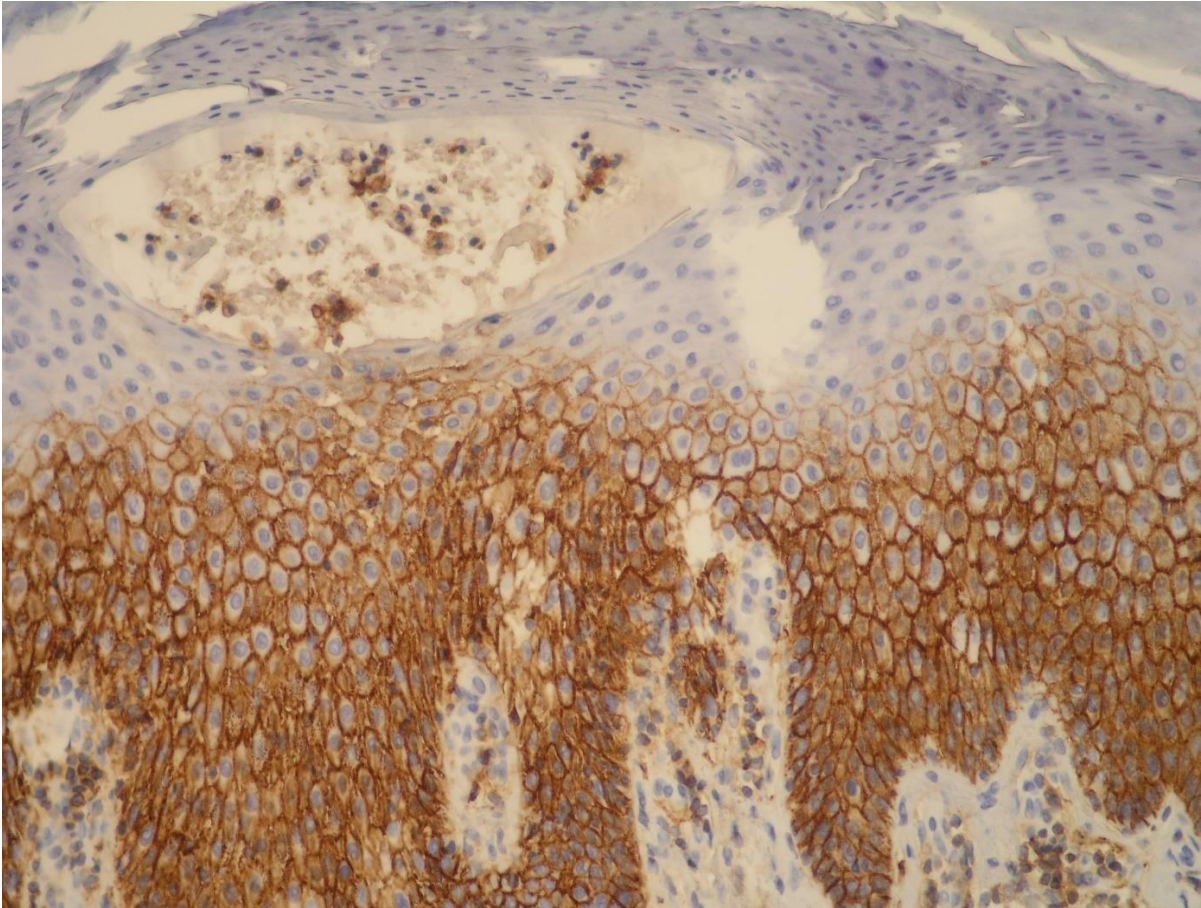
**Slika 9.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i suprabazalnim slojevima epidermisa te limfocitima i stromi dermisa kod iritativnog KD-a (X400)



**Slika 10.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i spinoznim slojevima epidermisa te limfocitima i stromi dermisa kod iritativnog KD-a (X400)

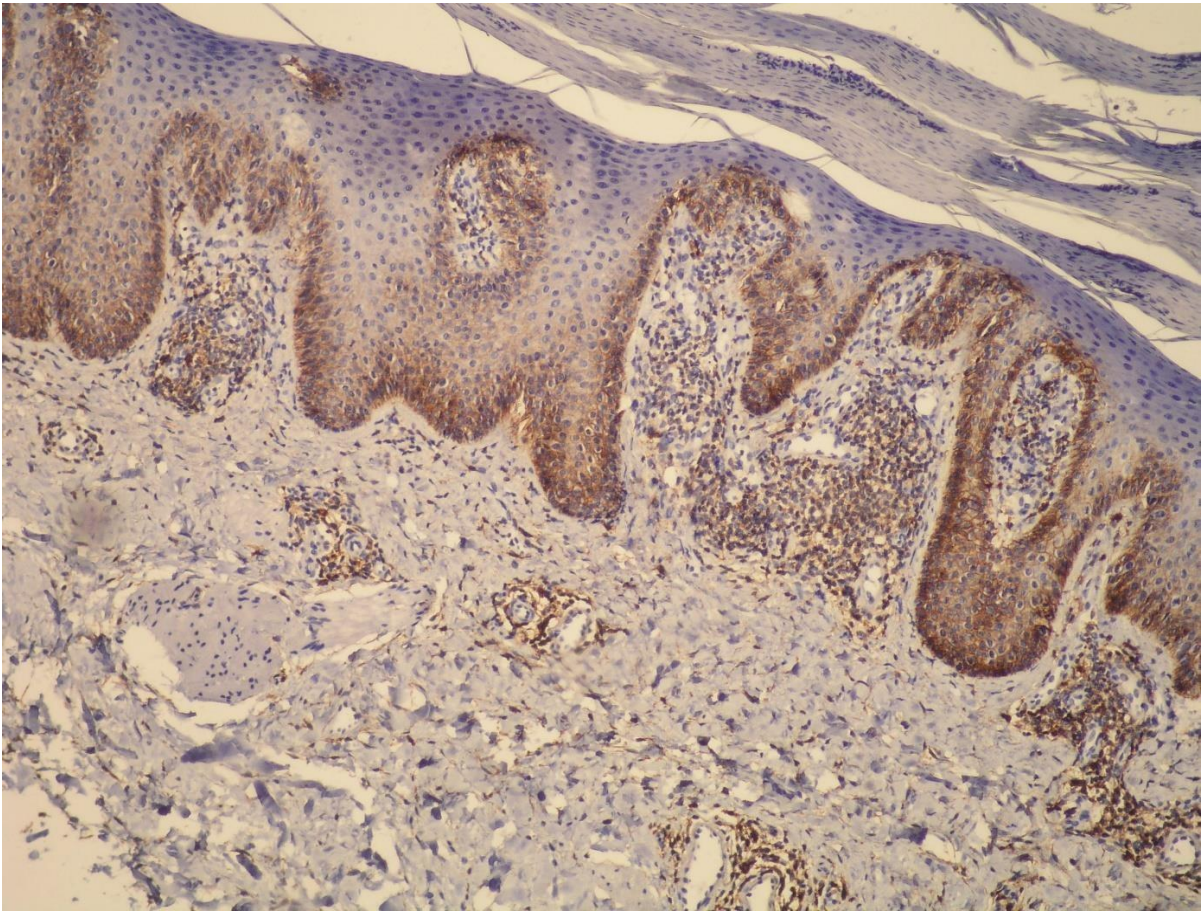


**Slika 11.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i dijelu spinoznih slojeva epidermisa te limfocitima unutar dermisa kod alergijskog KD-a (X200)

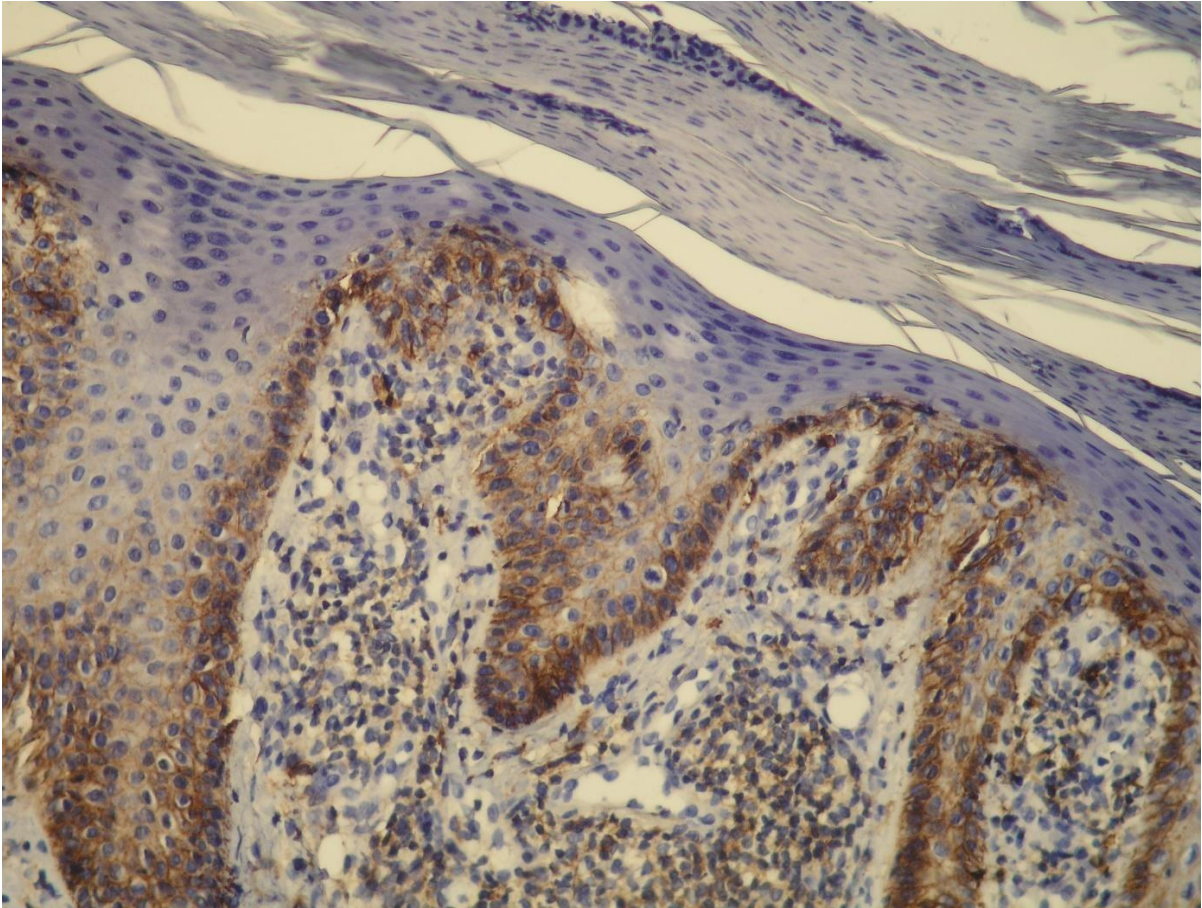


**Slika 12.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i dijelu spinoznih slojeva epidermisa te limfocitima unutar dermisa kod alergijskog KD-a (X400)

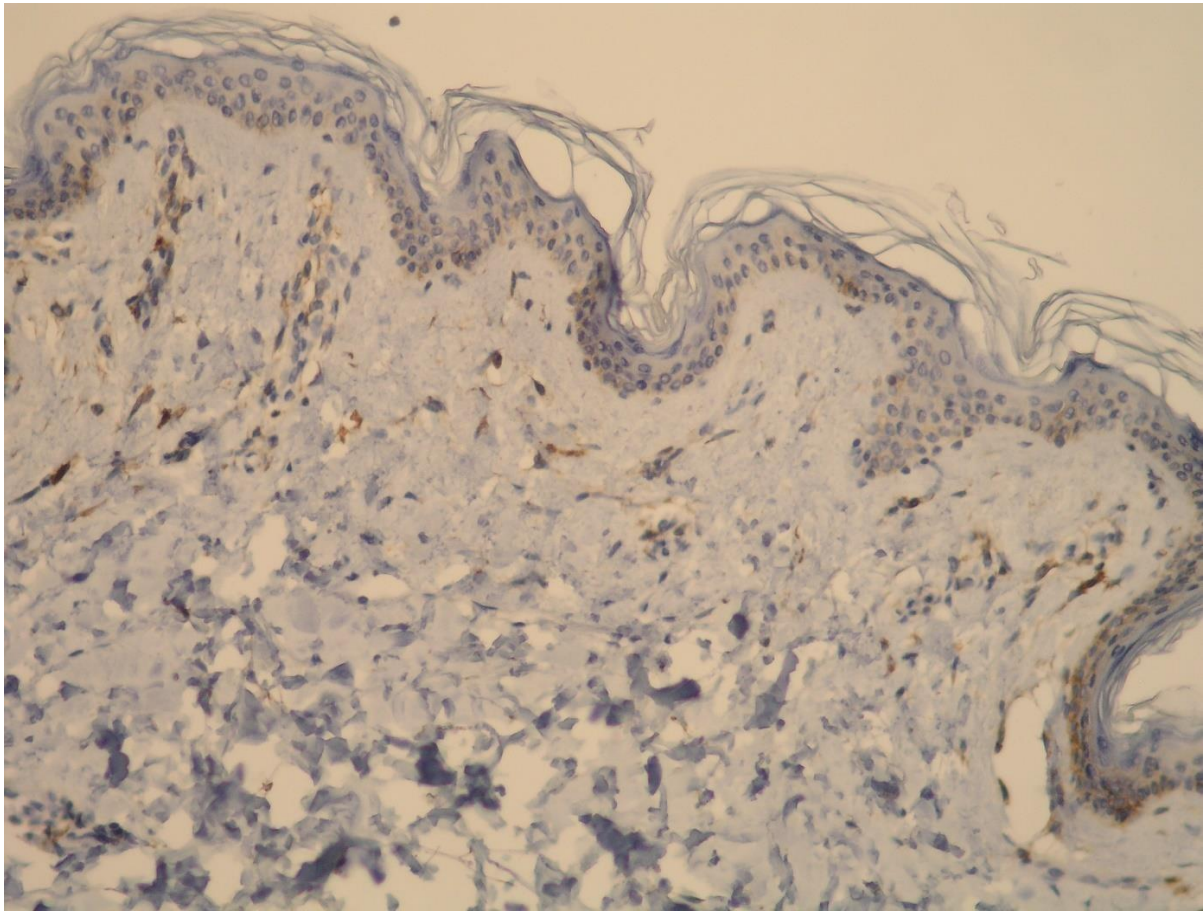




**Slika 13.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i suprabazalnim slojevima epidermisa te limfocitima unutar dermisa kod vulgarne psorijaze (X200)



**Slika 14.** Imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim i suprabazalnim slojevima epidermisa te limfocitima unutar dermisa kod vulgarne psorijaze (X400)



**Slika 15.** Slaba imunohistokemijska izraženost CD44 u bazalnim slojevima epidermisa te rijetkim limfocitima unutar dermisa kod zdravih ispitanika (X200)

## 5.2. Statistička analiza

Podatci su prikazani tablično i grafički. Razlike u imunohistokemijskoj izraženosti CD44 u raznim oblicima upalnih dermatoza (alergijski KD, iritativni KD i psorijaza) analizirane su međusobno te u odnosu na zdravu kožu kontrolne skupine Fisherovim egzaktnim testom za tablice veličine 2x2, odnosno Fisher-Freeman-Haltonovim egzaktnim testom u slučaju većeg broja kombinacija. Razlike u dobi između ispitivanih skupina obrađene su jednosmjernom analizom varijance.

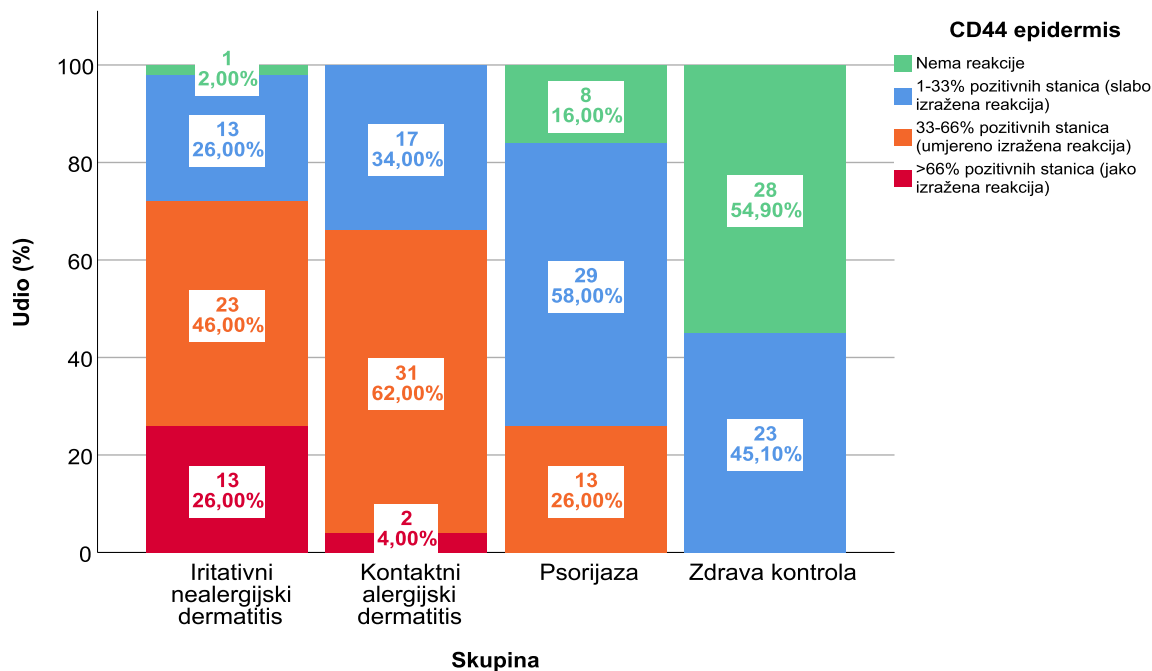
Izračunati su Spearmanovi koeficijenti korelacije između izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s iritativnim KD-om i alergijskim KDom s težinom bolesti. Apsolutne vrijednosti koeficijenata korelacije veće od 0,600 smatrane su jakom korelacijom, od 0,300 do 0,599 srednje jakom, a manje od 0,300 slabom (bila ona pozitivna ili negativna).

Sve P vrijednosti manje od 0,05 smatrane su značajnima. U analizi se upotrebljavala programska podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25

([www.ibm.com/analytics/datascience/predictive-analytics/spss-statistical-software](http://www.ibm.com/analytics/datascience/predictive-analytics/spss-statistical-software)).

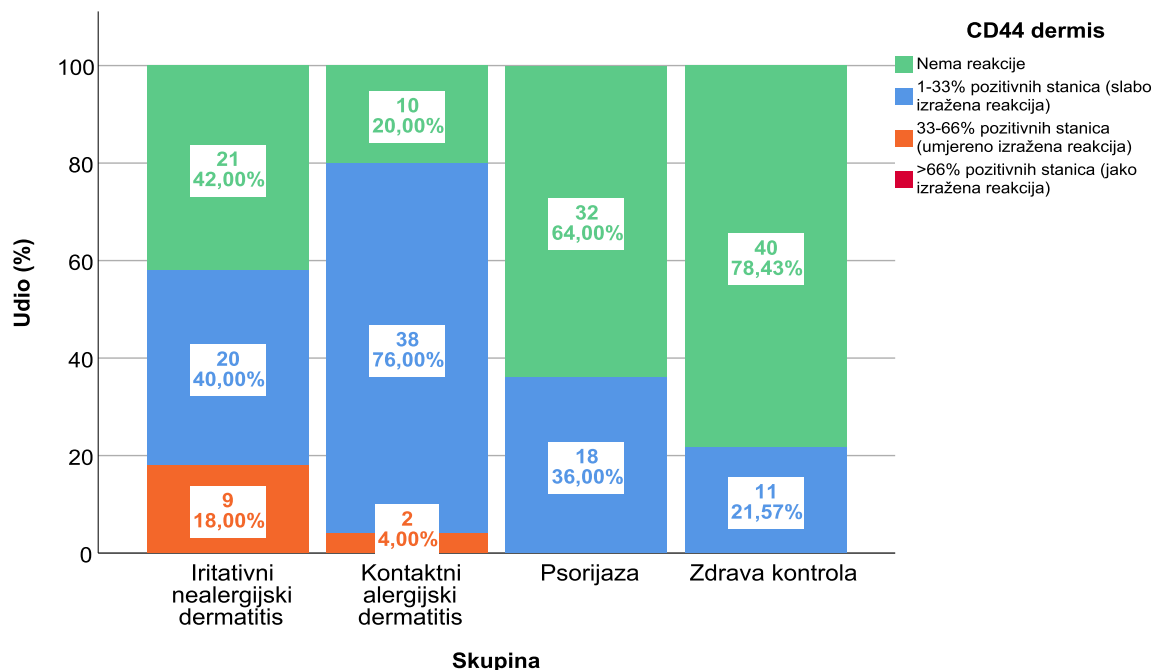
### **5.3. Grafički prikaz rezultata imunohistokemijske analize**

Rezultati imunohistokemijske analize izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om na koži šaka te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazani su grafički na Slikama od 16. do 19. i u Tablicama od 3. do 15.



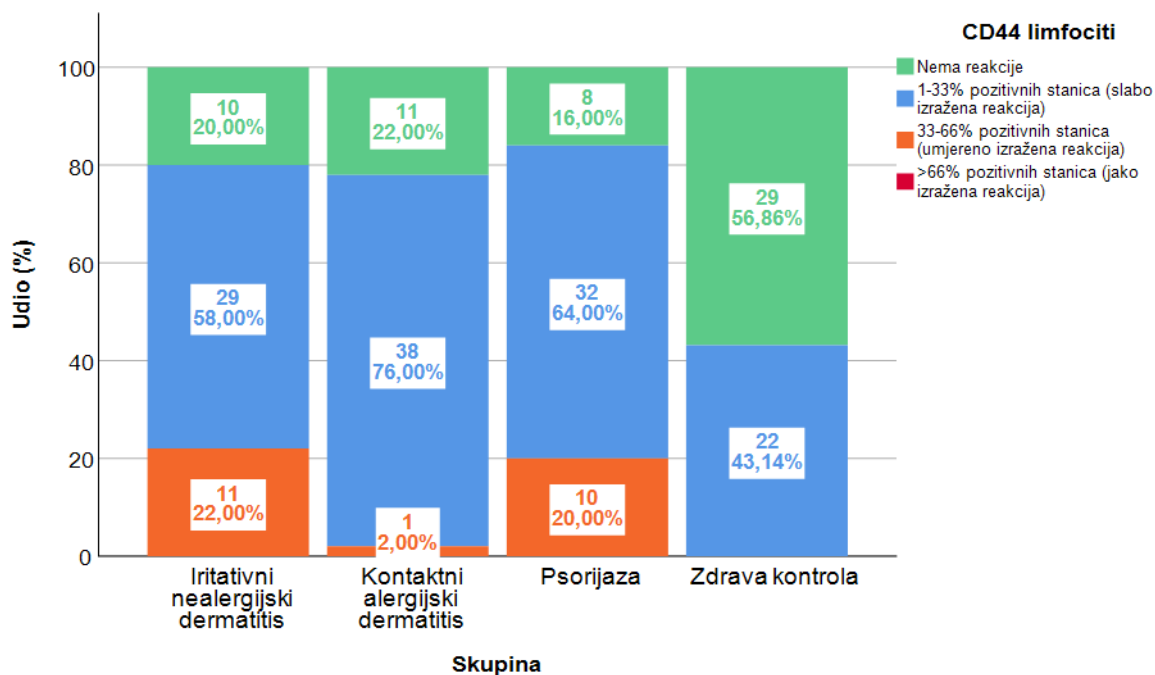
**Slika 16.** Izraženost CD44 u epidermisu bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om te kod bolesnika sa psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine:  $P < 0,001$

Slika 16. prikazuje izraženost CD44 u epidermisu kože šaka bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om, bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine. Razlike između skupina su statistički značajne ( $P < 0,001$ ) i razvidno je da je najveća izraženost u iritativnom KD-u, nakon čega slijedi alergijski KD.



**Slika 17.** Izraženost CD44 u dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om na koži šaka te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine:  $P < 0,001$

Izraženost CD44u dermisu te na limfocitima u biopstatima kože šaka bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om, bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je na Slici 17. pri čemu se skupine značajno razlikuju. Slično je i kad je riječ o epidermisu (Slika 16.) najveća je izraženost CD44 zamijećena je kod iritativnog KD-a, iako je znatno manja od one u epidermisu.



**Slika 18.** Izraženost CD44 na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om na koži šaka te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine:  $P < 0,001$

Izraženost CD44 na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s alergijskim KD-om, bolesnika s iritativnim KD-om na koži šaka te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je na Slici 18. Rezultati pokazuju značajnu razliku između ispitivanih skupina, s tom razlikom da je najjača izraženost uočena kod iritativnog KD-a i vulgarne psorijaze ( $P < 0,001$ ).



**Tablica 3.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine: Fisher-FreemanHaltonov egzakti test

		Zdrava kontrola		Vulgarna psorijaza		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	28	54,9%	8	16,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	23	45,1%	29	58,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	13	26,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	40	78,4%	32	64,0%	0,128
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	11	21,6%	18	36,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	29	56,9%	8	16,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	22	43,1%	32	64,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	10	20,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	

Usporedbom izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine uočena je značajno veća izraženost CD44 u epidermisu ( $P < 0,001$ ) i na limfocitima ( $P < 0,001$ ) (Tablica 3.)

**Tablica 4.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine: Fisherov egzaktni test

		Zdrava kontrola		Vulgarna psorijaza		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	28	54,9%	8	16,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	23	45,1%	42	84,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	40	78,4%	32	64,0%	0,128
	pozitivna reakcija	11	21,6%	18	36,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	29	56,9%	8	16,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	22	43,1%	42	84,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je u Tablici 4. kao binarna varijabla.

Koža zahvaćene vulgarnom psorijazom, u odnosu na zdravu kožu, ima značajno veću izraženost CD44 u epidermisu ( $P < 0,001$ ) i na limfocitima ( $P < 0,001$ ).

U Tablicama od 5. do 15. prikazane su usporedbe imunohistokemijske izraženosti CD44 u navedenim oblicima upalnih dermatoza (alergijski KD i iritativni KD, vulgarna psorijaza) međusobno i u odnosu na zdravu kožu kontrolne skupine. Imunohistokemijska izraženost promatrala se kao ordinalna varijabla (od 0=nema reakcije do 3=jako izražena reakcija) te kao binarna varijabla (0=nema reakcije i 1=pozitivna reakcija) kako bi se klinički i patohistološki bolje prikazale razlike između skupina.

**Tablica 5.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Zdrava kontrola		Alergijski KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	28	54,9%	0	0,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	23	45,1%	17	34,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	31	62,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	2	4,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	40	78,4%	10	20,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	11	21,6%	38	76,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	2	4,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	29	56,9%	11	22,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	22	43,1%	38	76,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	1	2,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je u Tablici 5.

U odnosu na zdravu kožu, alergijski KD ima značajno veću izraženost CD44 u epidermisu ( $P<0,001$ ), dermisu ( $P<0,001$ ) i na limfocitima ( $P<0,001$ ).

**Tablica 6.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine: Fisherov egzaktni test

		Zdrava kontrola		Alergijski KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	28	54,9%	0	0,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	23	45,1%	50	100,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	40	78,4%	10	20,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	11	21,6%	40	80,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	29	56,9%	11	22,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	22	43,1%	39	78,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je u Tablici 6. kao binarna varijabla.

U odnosu na zdravu kožu, alergijski KD ima značajno veću izraženost CD44 u epidermisu ( $P<0,001$ ), dermisu ( $P<0,001$ ) i na limfocitima ( $P<0,001$ ).

**Tablica 7.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioplatima kože bolesnika s iritativnim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Zdrava kontrola		Iritativni KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	28	54,9%	1	2,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	23	45,1%	13	26,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	23	46,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	13	26,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	40	78,4%	21	42,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	11	21,6%	20	40,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	9	18,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	29	56,9%	10	20,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	22	43,1%	29	58,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	11	22,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioplatima kože bolesnika s iritativnim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je u Tablici 7.

U odnosu na zdravu kožu, kod iritativnog KD-a zapažena je značajno veća izraženost CD44 u epidermisu ( $P < 0,001$ ), dermisu ( $P < 0,001$ ) i na limfocitima ( $P < 0,001$ ).

**Tablica 8.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s iritativnim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine: Fisherov egzakti test

		Zdrava kontrola		Iritativni KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	28	54,9%	1	2,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	23	45,1%	49	98,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	40	78,4%	21	42,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	11	21,6%	29	58,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	29	56,9%	10	20,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	22	43,1%	40	80,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s iritativnim KD-om i u zdravoj koži kontrolne skupine prikazana je u Tablici 8. kao binarna varijabla.

U odnosu na zdravu kožu, kod iritativnog KD-a zapažena je značajno veća izraženost CD44 u epidermisu ( $P < 0,001$ ), dermisu ( $P < 0,001$ ) i na limfocitima ( $P < 0,001$ ).

**Tablica 9.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s alergijskim KD-om: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Psorijaza		Alergijski KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	8	16,0%	0	0,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	29	58,0%	17	34,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	13	26,0%	31	62,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	2	4,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	32	64,0%	10	20,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	18	36,0%	38	76,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	2	4,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	8	16,0%	11	22,0%	0,014
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	32	64,0%	38	76,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	10	20,0%	1	2,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s alergijskim KD-om prikazana je u Tablici 9. Ako se promatra stupnjevanje od 0 do 3, izraženost CD44 značajno je veća i u epidermisu ( $P < 0,001$ ) i u dermisu ( $P < 0,001$ ), dok je na limfocitima samo značajno različita učestalost u kategorijama slabe i umjereno izražene reakcije ( $P = 0,014$ ).

**Tablica 10.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s alergijskim KD-om: Fisherov egzaktni test

		Psorijaza		Alergijski KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	8	16,0%	0	0,0%	0,006
	pozitivna reakcija	42	84,0%	50	100,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	32	64,0%	10	20,0%	<0,001
	pozitivna reakcija	18	36,0%	40	80,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	8	16,0%	11	22,0%	0,611
	pozitivna reakcija	42	84,0%	39	78,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u biopatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s alergijskim KD-om prikazana je u Tablici 10. Ako se promatra stupnjevanje od 0 do 3, izraženost CD44 značajno je veća i u epidermisu ( $P < 0,001$ ) i u dermisu ( $P < 0,001$ ), dok je na limfocitima značajno različita učestalost u kategorijama slabe i umjereno izražene reakcije ( $P = 0,014$ ). Kada se izraženost CD44 binarizira, onda se gubi ta značajnost razlike na limfocitima ( $P = 0,611$ ).



**Tablica 11.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s iritativnim KD-om: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Vulgarna psorijaza		Iritativni KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	8	16,0%	1	2,0%	<0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	29	58,0%	13	26,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	13	26,0%	23	46,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	13	26,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	32	64,0%	21	42,0%	0,002
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	18	36,0%	20	40,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	0	0,0%	9	18,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	8	16,0%	10	20,0%	0,850
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	32	64,0%	29	58,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	10	20,0%	11	22,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s iritativnim KD-om prikazana je u Tablici 11. Kod iritativnog KD-a zabilježena je značajno veća izraženost CD44 u epidermisu i dermisu u odnosu na vulgarnu psorijazu, dok razlike u izraženosti CD44 na limfocitima nisu bile statistički značajne.

**Tablica 12.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s iritativnim KD-om: Fisherov egzaktni test

		Vulgarna psorijaza		Iritativni KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	8	16,0%	1	2,0%	0,031
	pozitivna reakcija	42	84,0%	49	98,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	32	64,0%	21	42,0%	0,045
	pozitivna reakcija	18	36,0%	29	58,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	8	16,0%	10	20,0%	0,795
	pozitivna reakcija	42	84,0%	40	80,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s vulgarnom psorijazom i bolesnika s iritativnim KD-om prikazana je u Tablici 12. prikazana binarno. Kod iritativnog KD-a zabilježena je značajno veća izraženost CD44 u epidermisu i dermisu u odnosu na vulgarnu psorijazu, dok razlike u izraženosti CD44 na limfocitima nisu bile statistički značajne.

**Tablica 13.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i bolesnika s iritativnim KD-om: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Iritativni KD		Alergijski KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	1	2,0%	0	0,0%	0,007
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	13	26,0%	17	34,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	23	46,0%	31	62,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	13	26,0%	2	4,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	21	42,0%	10	20,0%	0,001
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	20	40,0%	38	76,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	9	18,0%	2	4,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	10	20,0%	11	22,0%	0,008
	1-33% pozitivnih stanica (slabo izražena reakcija)	29	58,0%	38	76,0%	
	33-66% pozitivnih stanica (umjereno izražena reakcija)	11	22,0%	1	2,0%	
	>66% pozitivnih stanica (jako izražena reakcija)	0	0,0%	0	0,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i bolesnika s iritativnim KD-om prikazana je u Tablici 13.

Kod stupnjevanja od 0 do 3 značajne razlike u učestalosti umjerene i slabe izraženosti zabilježene su u epidermisu (P=0,007), dermisu (P=0,001) i na limfocitima (P=0,008).

**Tablica 14.** Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i bolesnika s iritativnim KD-om: Fisherov egzaktni test

		Iritativni KD		Alergijski KD		P
		N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	1	2,0%	0	0,0%	1,000
	pozitivna reakcija	49	98,0%	50	100,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	21	42,0%	10	20,0%	0,030
	pozitivna reakcija	29	58,0%	40	80,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	10	20,0%	11	22,0%	1,000
	pozitivna reakcija	40	80,0%	39	78,0%	

Razlika u izraženosti CD44 u epidermisu i dermisu te na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om i bolesnika s iritativnim KD-om prikazana je u Tablici 14.

Kod binarizirane izraženosti uočena je značajno češća pozitivna reakcija u dermisu u skupini bolesnika s alergijskim KD-om ( $P=0,030$ ).

**Tablica 15.** Razlike u spolu i dobi između ispitivanih skupina

	<b>Zdrava kontrola</b>	<b>Vulgarna psorijaza</b>	<b>Iritativni KD</b>	<b>Alergijski KD</b>	<b>P</b>
Ženski spol: n (%)	30 (58,8%)	25 (50,0%)	32 (64,0%)	33 (66,0%)	0,365
Dob (godine): aritmetička sredina ± SD	42,9 ± 15,6	51,0 ± 15,9	52,3 ± 15,1	48,8 ± 14,4	0,011

Tablica 15. prikazuje razlike u spolu i dobi između ispitivanih skupina. Dok se po spolu skupine nisu značajno razlikovale, zdrava kontrola bila je značajno mlađa u odnosu na ostale skupine (P=0,011).

Usporedba rezultata imunohistokemijske izraženosti CD44 s izraženošću kliničke slike bolesnika s alergijskim KD-om i iritativnim KD-om praćene tijekom godine dana prikazana je u tablicama od 16. do 20.

**Tablica 16.** Razlike u parametrima težine bolesti između iritativnog KD-a i alergijskog KD-a: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

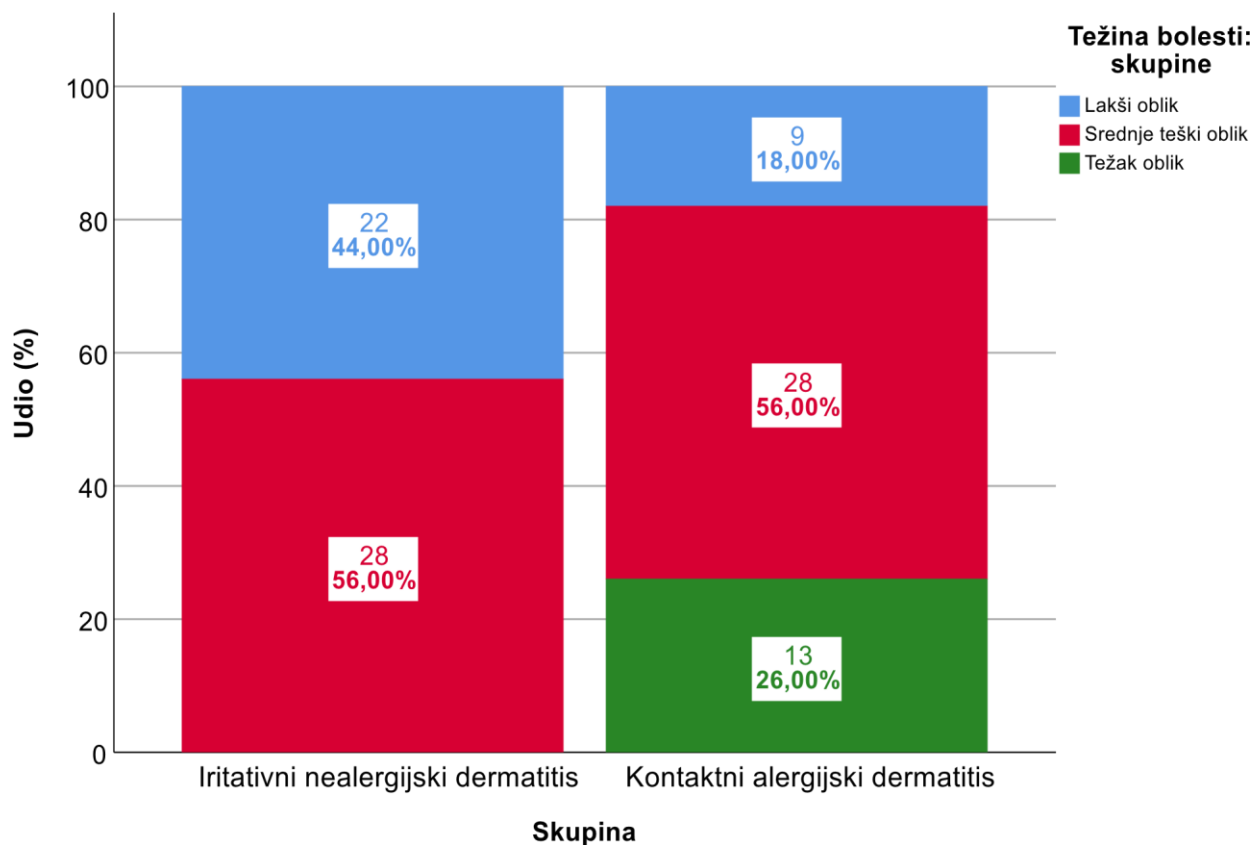
		Skupina				P
		Iritativni KD		Alergijski KD		
		N	%	N	%	
p1. alergije dokazane u epikutanom testu	samo iritativna alergija na flaster	50	100,0%	0	0,0%	<0,001
	1 alergen	0	0,0%	33	66,0%	
	>=2 više alergena	0	0,0%	17	34,0%	
p2. broj recidiva	1x	18	36,0%	9	18,0%	0,138
	2x	21	42,0%	25	50,0%	
	>=3x	11	22,0%	16	32,0%	
p3. zahvaćenost kože	< 2 tjedna	25	50,0%	14	28,0%	0,006
	2-6 tjedana	7	14,0%	9	18,0%	
	od 6 tjedana do 3 mjeseca	3	6,0%	2	4,0%	
	>3 mjeseca	7	14,0%	2	4,0%	
	3-6 mjeseci	8	16,0%	23	46,0%	
p4. izraženost promjena na koži	samo suhoća kože, svrbež, blagi eritem	17	34,0%	10	20,0%	0,488
	jaki eritem uz gore navedeno	20	40,0%	24	48,0%	
	eritem, mjehuri, ljuskanje	7	14,0%	8	16,0%	
	eritem, ragade, zadebljanja kože	6	12,0%	8	16,0%	
	sve navedeno	0	0,0%	0	0,0%	
p5. th lokalnim kortiko	ukupno do 3 tjedna	19	38,0%	17	34,0%	0,369
	ukupno od 3 do 6 tjedana	23	46,0%	19	38,0%	
	ukupno više od 6 tjedana	8	16,0%	14	28,0%	
p6. Th imunomodulatori	bez terapije	26	52,0%	25	50,0%	0,734
	ukupno do 3 tjedna	20	40,0%	17	34,0%	
	ukupno od 3 do 6 tjedana	4	8,0%	6	12,0%	
	ukupno od 6 do 8 tjedana	0	0,0%	1	2,0%	
	> 8 tjedana	0	0,0%	1	2,0%	
p7. Th kortikosteroidi sustavni	bez terapije	37	74,0%	24	48,0%	0,026
	<3 dana	10	20,0%	21	42,0%	
	4-10 dana	3	6,0%	3	6,0%	
	>11 dana	0	0,0%	2	4,0%	
p8. hospitalizacija	ne da,	40	80,0%	34	68,0%	0,224
	jedanput	10	20,0%	14	28,0%	
	da, više puta	0	0,0%	2	4,0%	

Težina kliničke slike evaluirala se nakon godinu dana prema upitniku za bolesnike te prema podacima o dobi i spolu. Sumarno gledajući bolesnici s alergijskim KD-om imali su težu kliničku sliku u usporedbi s onima s iritativnim KD-om ( $P<0,001$ ), čemu su najviše pridonijele značajne razlike u zahvaćenosti kože ( $P=0,006$ ), korištenju sustavne kortikosteroidne terapije ( $P=0,026$ ), izloženosti alergenima ( $P<0,001$ ) i ograničenjima u svakodnevnom radu ( $P=0,001$ ). (Tablica 16. i 17.)

**Tablica 17.** Razlike u parametrima težine bolesti između iritativnog KD-a i alergijskog KD-a (nastavak): Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Skupina				P
		Iritativni KD		Alergijski KD		
		N	%	N	%	
p9. izloženost alergenima	nikad,	50	100,0%	10	20,0%	<0,001
	ne zna povremeno	0	0,0%	26	52,0%	
	svakodnevno	0	0,0%	14	28,0%	
p10. iritansi	ponekad	42	84,0%	37	74,0%	0,344
	često	7	14,0%	9	18,0%	
	svakodnevno	1	2,0%	4	8,0%	
p11. rukavice	redovito	7	14,0%	9	18,0%	0,126
	povremeno	33	66,0%	38	76,0%	
	nikad	10	20,0%	3	6,0%	
p12. ograničenja u svakodnevnom radu	ne smeta mi jer se rijetko javljaju	14	28,0%	2	4,0%	0,001
	smeta mi jer su povremeno vidljive promjene na koži ruku	23	46,0%	22	44,0%	
	smeta mi jer su na koži često vidljive promjene i često svrbi, peče, boli	9	18,0%	22	44,0%	
	jako me smeta jer su gotovo stalno vidljive promjene i teško mogu obavljati svakodnevne poslove	4	8,0%	4	8,0%	
Težina bolesti: skupine	lakši oblik	22	44,0%	9	18,0%	<0,001
	srednje teški oblik	28	56,0%	28	56,0%	
	težak oblik	0	0,0%	13	26,0%	





**Slika 19.** Razlike u kategorizaciji težine bolesti između iritativnog KD-a i alergijskog KD-a:  $P < 0,001$

Na Slici 19. vidimo da je udio bolesnika sa srednje teškim oblikom alergijskog KD-a i iritativnog KD-a podjednak. Međutim sumarno gledajući bolesnici s alergijskim KD-om imali su težu kliničku sliku.

**Tablica 18.** Odnos kategorizacije težine bolesti i izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s iritativnim KD-om: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Težina bolesti: skupine						P
		Lakši oblik		Srednje teški oblik		Težak oblik		
		N	%	N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	0	0,0%	1	3,6%	0	0,0%	0,457
	1-33% pozitivnih stanica	7	31,8%	6	21,4%	0	0,0%	
	33-66% pozitivnih stanica	8	36,4%	15	53,6%	0	0,0%	
	>66% pozitivnih stanica	7	31,8%	6	21,4%	0	0,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	8	36,4%	13	46,4%	0	0,0%	0,673
	1-33% pozitivnih stanica	9	40,9%	11	39,3%	0	0,0%	
	33-66% pozitivnih stanica	5	22,7%	4	14,3%	0	0,0%	
	>66% pozitivnih stanica	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	5	22,7%	5	17,9%	0	0,0%	0,813
	1-33% pozitivnih stanica	13	59,1%	16	57,1%	0	0,0%	
	33-66% pozitivnih stanica	4	18,2%	7	25,0%	0	0,0%	
	>66% pozitivnih stanica	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	

Nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima dobivenih usporedbom s težinom bolesti kod iritativnog KD-a (Tablica 18.).

**Tablica 19.** Odnos kategorizacije težine bolesti i izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima u biopstatima kože bolesnika s alergijskim KD-om: Fisher-Freeman-Haltonov egzaktni test

		Težina bolesti: skupine						P
		Lakši oblik		Srednje teški oblik		Težak oblik		
		N	%	N	%	N	%	
CD44 epidermis	nema reakcije	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0,761
	1-33% pozitivnih stanica	3	33,3%	9	32,1%	5	38,5%	
	33-66% pozitivnih stanica	5	55,6%	18	64,3%	8	61,5%	
	>66% pozitivnih stanica	1	11,1%	1	3,6%	0	0,0%	
CD44 dermis	nema reakcije	3	33,3%	4	14,3%	3	23,1%	0,653
	1-33% pozitivnih stanica	6	66,7%	23	82,1%	9	69,2%	
	33-66% pozitivnih stanica	0	0,0%	1	3,6%	1	7,7%	
	>66% pozitivnih stanica	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	
CD44 limfociti	nema reakcije	2	22,2%	5	17,9%	4	30,8%	0,403
	1-33% pozitivnih stanica	7	77,8%	23	82,1%	8	61,5%	
	33-66% pozitivnih stanica	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%	
	>66% pozitivnih stanica	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	

Također nije bilo ni značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima dobivenih usporedbom s težinom bolesti kod alergijskog KD-a (Tablica 19.).

**Tablica 20.** Korelacija izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s iritativnim KD-om i alergijskim KD-om u odnosu na težinu bolesti: Spearmanovi korelacijski koeficijenti

		Iritativni KD	Alergijski KD
		Težina bolesti	Težina bolesti
CD44 epidermis	Korelacijski koeficijent P	0,021	-0,192
		0,885	0,182
	N	50	50
CD44 dermis	Korelacijski koeficijent P	-0,067	0,032
		0,642	0,825
	N	50	50
CD44 limfociti	Korelacijski koeficijent P	0,048	0,030
		0,742	0,835
	N	50	50

Nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima dobivenih usporedbom s težinom bolesti kod iritativnog i alergijskog KD-a.

(Tablica 20.)

## **6.RASPRAVA**

---

CD44 važan je glikoprotein na staničnoj površini koji je uključen u razne međustanične interakcije, stanične adhezije, migracije, uključujući aktivaciju limfocita, hematopoezu i metastaziranje tumora (30,60).

Najmanja molekula CD44 naziva se standardni CD44 (CD44s), a njegove šire varijable (CD44v6, CD44v9, Cd44v2-10 i Cd44v3-10) nastaju umetanjem jednog ili više alternativnih eksona u standardni Cd44s (61). Istraživan je i način transkripcije CD44 u zdravoj koži te izraženost toga biljega nakon izloženosti kože različitim agensima (62). Osim brojnosti funkcija CD44, treba imati u vidu da se javljaju i posttranslacijske izmjene/modifikacije (kao što su fosforilacija i glikozilacija) koje utječe na povećanu ili smanjenu funkcionalnost dijela ili oblika CD44 (63).

U dosadašnjim istraživanjima koja su provedena na životinjama i na koži zdravih ljudi uloge pojedinih oblika CD44 nisu sasvim razjašnjene. Prema imunofluorescentnoj analizi kože, osnovni (standardni) oblik CD44s najizraženiji je u epidermisu i dermisu, dok su njegovi oblici v6 i v9 izraženiji u epidermisu (62). Iako u našem istraživanju nismo raščlanjivali oblike CD44, prema rezultatima može se zaključiti da su oblici CD44v6 i v9 ti koji su bili statistički značajno izraženiji u epidermisu lezija kod iritativnog KD-a. Osim u epidermisu, veću izraženost CD44 utvrdili smo i u dermisu, koja je češće dokazana kod iritativnog nego alergijskog KD-a, pri čemu je u dermisu ta izraženost ipak bila slabija nego u epidermisu.

Na temelju navedenih spoznaja, jedan od ciljeva našeg istraživanja bio je usporediti izraženost CD44 u epidermisu, dermisu i na limfocitima u bioptatima kože bolesnika s alergijskim KD-om, iritativnim KD-om, vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži. Gledajući ekspresiju u epidermisu, u rezultatima smo utvrdili statistički značajnu razliku među skupinama, s najvećom izraženosti CD44 u iritativnom KD-u, nakon kojega slijedi alergijski KD, a zatim vulgarna psorijaza i zdrava koža. Naši dobiveni rezultati potvrđuju i naglašavaju ulogu CD44 u KD-u, osobito u iritativnom KD-u.

Među aktualnim istraživanjima iz ovoga područja dermatologije ističe se nedavno istraživanje histomorfoloških i imunofenotipskih karakteristika lezija kod alergijskog KD-a, iritativnog KDa i atopijskog dermatitisa (AD) ispitivanjem nekoliko pokazatelja: biopsija kože, epikutani test, test ubodom (prick), serumski IgE, imunohistokemijsko određivanje CD3, CD4, CD8,

CD11c, CD34, CD123, S100 i IL-17 (64). Iako dobivenim rezultatima nije utvrđena statistički značajna razlika između ekspresije navedenih biljega u epidermisu i dermisu kod alergijskog KD-a, iritativnog KD-a i AD-a, bitne razlike utvrđene su u eozinofilima koji su bili značajno izraženiji u lezijama AD-a, u odnosu na alergijski KD i iritativni KD. Prema rezultatima iste studije, u diferencijaciji između AD-a, alergijskog KD-a i iritativnog KD-a histologija i imunohistokemija nisu metode izbora, ali su korisne radi isključenja vulgarne psorijaze i T-staničnog limfoma (64). S druge strane, izražavanje CD44 do sada je istraživano samo na animalnim modelima oboljelih životinja, dok nije istraživano kod bolesnika s KD-om. Uloga CD44 kod AD-a istraživana je na animalnim modelima (kod IL-4 transgeničnog mišjeg modela AD-a) ispitivanjem korelacije između razvoja upale te napredovanja stanične aktivacije i migracije (65). Prema tim rezultatima s napredovanjem bolesti, raste i postotak CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> T-limfocita koji izražavaju aktivacijske markere (CD44 i CD69) i kostimulirajuće molekule (*engl. inducible T-cell costimulator* i *programmed cell death protein- 1*)(ICOS i PD-1), što potvrđuje ulogu CD44 u AD-u (65).

Uloga CD44 osobito je važna za staničnu barijeru kože. Dokazano je da je za razvoj epidermisa i stvaranje kožne barijere ključna međustanična adhezija, nužna za cjelovitost strukture i stvaranje barijere epidermisa (66-68). Studije su pokazale da su proteini stanične adhezije važni za funkcije tkiva, uključujući kontrolu staničnog rasta, diferencijaciju i upalu (66). Rezultati prijašnjih istraživanja na miševima upućuju na povezanost CD44 u sklopu međustaničnih čvrstih veza (*engl. tight junctions*) (TJ), važnih za funkcioniranje i održavanje kožne barijere (69,70). Dokazane uloge CD44 u kožnoj barijeri na temelju istraživanja na miševima mogu potkrijepiti i naše rezultate. Naime, oni pokazuju veću izraženost CD44 i u epidermisu i u dermisu kod alergijskog KD-a, ali još je znatnije izražen kod iritativnog KD-a u odnosu na ostale skupine, što govori u prilog važnosti očuvane kožne barijere koja je povezana s CD44. Od ostalih uloga CD44 bitno je naglasiti da su njegovi oblici uključeni u važne signalne puteve jer CD44 može potiču signale za epidermalni čimbenik rasta (*engl. epidermal growth factor*) (EGF), čimbenik rasta hepatocita (*engl. hepatocyte growth factor*) (HGF) ili vaskularni endotelni čimbenik rasta (*engl. vascular endothelial growth factor*) (VEGF). Ovi angiogeni čimbenici potiču stvaranje krvnih žila kojima se stanice hrane kisikom i hranjivim tvarima, što omogućuje razvoj, upalu, ali i rast tumora. To je osobito važno u patogenezi zloćudnih tumora jer vjerojatno putem tih krvnih žila dolazi i do širenja

metastaza (71). U tome je bitan VEGF, pro-angiogeni i imunomodulatorni citokin koji ima i sustavno značenje te ulogu u tumorskom mikrookolišu. Ovo je osobito važno zbog toga što postoji i terapijska mogućnost primjene VEGF inhibitora (bevacizumab) kod malignih tumora (72).

Budući da je CD44 stanični površinski receptor na imunokompetentnim stanicama koji veže hijaluronan, studijama *in vitro* dokazana je njegova važnost za prijanjanje leukocita na endotelne stanice i daljnju leukocitnu transendotelnu migraciju. Prema rezultatima eksperimentalnih studija *in vivo*, tijekom kontaktnog alergijskog odgovora za ekstravazaciju stanica potrebno je izražavanje CD44 na limfocitima, zbog čega smo i postavili našu inicijalnu hipotezu o dominantnoj izraženosti CD44 u alergijskom KD-u.

Postoje dokazi da se putem matriksa hijaluronana (MH) potiče CD44 signaliziranje koje aktivno pomaže keratinocitne aktivnosti i poboljšava poremećene epidermalne funkcije (73). Naime, u epidermisu se u sastavu hemidesmosoma nalaze komponente ekstracelularnog matriksa (ECM) koje posreduju pričvršćivanje keratinocita na bazalnu membranu (73). Pritom je ECM hijaluronan glavni glikozaminoglikan u ECM-u većine tkiva, uključujući epidermis i dermis te je hijaluronska kiselina (engl. *hyaluron acid*) (HA) uključena u nekoliko funkcija epidermisa. No još nije potpuno istražen stanični i molekularni mehanizam kojim keratinociti reagiraju na HA (73).

Nadalje, pokazalo se da je u koži životinja s blokiranim genom za CD44 (CD44 *knockdown* ili CD44 *knockout* miševa) znatno smanjena izraženost nekoliko biljega keratinocitne diferencijacije (kao što su involucrin i filagrin) u odnosu na CD44 divljeg tipa miševa (kod kojih nije blokiran gen za CD44). To potvrđuje da HA i CD44 imaju važnu ulogu u normalnim epidermalnim fiziološkim i keratinocitnim funkcijama (npr. u diferencijaciji). Kod nedostatka CD44 u koži uočene su znatne promjene funkcije barijere keratinocita, uključujući promijenjenu proliferaciju, diferencijaciju i sintezu lipida (73).

Ispitivana je i uloga CD44 u organizaciji keratinocitnog pericelularnog hijaluronana (74,75).

Kao glikoprotein stanične površine, CD44 uključen je u važne stanične funkcije koje većinom uključuju hijaluronan (staničnu adheziju, migraciju i modulaciju signala s receptora stanične površine). Ipak, slabije je poznata uloga CD44 u održavanju i organizaciji hijaluronana na površini stanice te uloga CD44 u sintezi i katabolizmu hijaluronana (75). No u koži s manjkom CD44 (izazvanim retinoičnom kiselinom) uočeno je difuzno nakupljanje hijaluronana u površinskim epidermalnim slojevima (inače normalno negativnim za



hijaluronan). To pokazuje da CD44 zadržava hijaluronan u pericelularnom matriksu keratinocita i kod odsutnosti CD44 dolazi do nakupljanja hijaluronana, što može potaknuti njegovo hvatanje na abnormalnim mjestima te ometati normalnu diferencijaciju i epidermalnu barijeru (75).

Upravo je ta interakcija CD44/HA ključna u staničnoj diferencijaciji, proliferaciji i migraciji stanica, a bitnu ulogu ima kod tumora, kod kojih je važna u njihovoj progresiji te metastaziranju zloćudnih tumora (76,77).

Za poznavanje značenja CD44 u dermatologiji važno je da CD44 sudjeluje i u fiziološkim i u patološkim procesima, kao što su npr. adhezija matriksa, navođenje i aktivacija limfocita, cijeljenje rana, stanični rast, preživljavanje i migracija stanica. S obzirom na navedeno, naši su rezultati potvrdili veću izraženost CD44 na limfocitima u lezijama kože kod ispitivanih upalnih dermatoza (alergijski i iritativni KD, vulgarna psorijaza) nego u zdravoj koži, što podupire činjenicu da CD44 aktivira limfocite i sudjeluje u kaskadi upalnog odgovora. Stoga je izraženost CD44 veća u navedenim upalnim dermatozama, tj. u biopsijama kožnih lezija bolesnika u odnosu na zdravu kožu.

Iako je naša početna hipoteza bila da je u koži bolesnika s alergijskim KD-om vjerojatno povećana imunohistokemijska izraženost CD44 u odnosu na druge ispitivane upalne dermatoze i zdravu kontrolu te da imunohistokemijska izraženost CD44 kod bolesnika s alergijskim KD-om korelira s težinom kliničke slike, dobivenim rezultatima našeg istraživanja nismo potvrdili tu hipotezu. Naime, prema tim rezultatima, CD44 bio je statistički značajno izraženiji kod iritativnog KD-a (u epidermisu i dermisu te na limfocitima) u odnosu na alergijski KD. To upućuje na važnu ulogu CD44 u iritativnom KD-u, gdje vjerojatno sudjeluje u održavanju stanične barijere i složenim patogenetskim procesima do kojih dolazi djelovanjem mnogih tvari povezanih s pojavom iritativnog KD-a koje potiču iritativne (toksične) učinke: kemijske i fizikalne tvari, biljke, fototoksične tvari, čimbenici iz okoliša itd. U tome osobito važnu ulogu ima oštećena funkcija kožne barijere (npr. promjene epidermalnih pH puferskih sposobnosti) promicanjem bakterijskih biofilmova i stvaranjem okruženja koja pogoduju senzibilizaciji (78,79). Rezultati dosadašnjih istraživanja provedenih na eksperimentalnim životinjama i rezultati našeg istraživanja na oboljelim ljudima upućuju na to da CD44 ima ulogu u upalnim dermatozama, pri čemu je njegova uloga važna u imunom sustavu i kaskadi zbivanja kod alergijskih bolesti kao što su alergijski KD i AD, ali još je važnija, prema našim rezultatima, u iritativnom KD-u.

Postoje brojni dokazi da CD44 kao receptor za usmjeravanje leukocita (“*leukocit-homing*”) ima važnu ulogu u ekstravazaciji T-limfocita, kao i monocita (80). Prijašnje studije pokazale su da protutijelo anti-CD44 inhibira pokretanje kasne alergijske reakcije (engl. *delayed hypersensitivity reaction*) (DTH reakcije) i kontaktne alergijske reakcije preosjetljivosti tijekom prvih 24 sata. Prema rezultatima na animalnim modelima, kod ciljanog brisanja CD44 smanjen je ulazak leukocita u područje upale tkiva, što je u skladu s tom pretpostavkom.

Rezultati prijašnjih studija (eksperimentalni model) dokazuju važnu ulogu CD44 u ekstravazaciji leukocita, uključujući aktivirane leukocite u autoimunim bolestima i alergijskim reakcijama (80). Ipak, nije utvrđeno utječe li blokada CD44 u autoimunim i alergijskim reakcijama na iste ili različite efektorske stanice i jesu li uključene različite izoforme CD44 te postoji li razlika povezana s organom.

Nakon spoznaje da izoforme CD44 ometaju ekstravazaciju pojedinih leukocitnih podskupina, ista pojava istraživana je kod alopecije i kroničnog ekcema, na temelju korisnog terapijskog učinka primjene kontaktnog senzibilizirajućeg sredstva u liječenju alopecije (takva blaga DTH reakcija dugo se održava) (80). Ispitivala se i mogućnost da bi se blokada migracije efektorskih stanica mogla postići s pomoću izoformi CD44 specifičnih protutijela.

Utvrđeno je da se CD44 može povezati s nekoliko integrina i ICAM-1, a takva veza ovisi o aktivaciji CD44 te varira ovisno o izoformama CD44 i leukocitnim subpopulacijama. Pritom se standardna izoforma CD44 prvenstveno povezuje s CD49d u T-limfocitima i CD44v10 s CD11b u monocitima. Stoga protutijela anti-panCD44 i anti-CD49d inhibiraju ponajprije migracije T-limfocita, dok anti-CD11b i anti-CD44v10 inhibiraju migracije makrofaga. Zapažena korist antialergijskog liječenja kod alopecije vjerojatno je povezana s djelovanjem T-limfocita selektivno preko anti-panCD44-CD49d bispecifičnog protutijela (80). No pokazalo se da protutijela anti-panCD44 i anti-CD44v10 također mogu potaknuti pojavu težih DTH reakcija (81). Vezano s ekstravazacijom stanice tijekom upale kože, protutijela anti-panCD44 i anti-CD44v10 interferiraju s ekstravazacijom monocita i T-limfocita u kožu; pritom su, ovisno o bolesti, najviše pogođene određene efektorske stanice (stanice CD4+ u kontaktnoj alergijskoj reakciji, a monociti u alopeciji).

Budući da je CD44 važan u ekstravazaciji leukocita kod autoimunskih bolesti i alergijskih reakcija, mogući ciljevi terapije anti-CD44 su endotelne stanice i leukociti koji izražavaju CD44, čijom blokadom bi se smanjila migracija leukocita (veći učinak ima blokada CD44 na leukocitima) (80). Endotelne stanice pridonose adheziji leukocita putem nadzora ekspresije

CD44, sekrecije HA i vezanjem kemokina (82-85). Leukocitno kotrljanje (posredovano CD44) na hijaluronanu koji luče endotelne stanice ovisi o aktivacijskom stanju CD44 i tijekom upale je kotrljanje pojačano (80,86). U ranoj fazi indukcije odgovora nastala interakcija CD154-CD40 izaziva na T-limfocitima snažnu regulaciju CD44. Stoga su takve izrazito CD44-pozitivne stanice mogući ciljevi za anti-CD44, što uključuje ometanje njihove ekstravazacije (80,82). Kod anti-CD44 posredovane blokade migracije leukocita uočena je i selektivnost organa: protutijela anti-panCD44 i anti-CD44v10 ometaju izražavanje leukocita u koži. Pri tom je poznato da anti-CD44 blokira ekstravazaciju leukocita, ali se ne znaju precizni molekularni mehanizmi. Iako aktivnost CD44 kao kemokinskog receptora može pridonijeti blokadi leukocitne migracije putem anti-CD44, ti učinci su slabi i ne podržavaju ključnu ulogu promijenjenog kemokina i izraženosti njihovog receptora. Za blokadu leukocitne migracije posredovane CD44 ključna je udruženost između CD44 i integrina. Prema stanju aktivacije, CD44 vezuje CD49d koji podržava čvrstu adheziju, migraciju limfocita, aktivaciju i otpornost na apoptozu, zbog molekula koje pristupaju poveznicama i molekulama prijenosa/transdukcije s pomoću odgovarajućeg vezanja.

Prema prijašnjim istraživanjima, uključivanje CD44 u ekstravazaciju leukocita varira, ovisno o izoformi CD44, subpopulaciji leukocita i organskom okolišu (80). Protutijelo anti-CD44, osobito anti-CD44v10, inhibira isključivo usmjeravanje i smještaj T-limfocita u kožu.

Prema prije provedenim istraživanjima, najviše obećava blokada CD49d povezanog CD44 na efektorskim T-limfocitima s pomoću dvostruko specifičnog protutijela, koja ne bi trebala utjecati na migriranje i nakupljanje efektorskih stanica na aktivnim mjestima kože i na njihovu efektivnost. Takva selektivna blokada CD44 već se pokazala uspješnom u primjeni kod B-limfocitne leukemije (80).

Dosadašnja istraživanja pokazuju da patogenetski proces promjena kože kod alergijskog KD-a obuhvaća kompleksne imunosne putove i upalne medijatore koji su i pod utjecajem genetskih čimbenika (pretežno mutacija filagrina) i okidača iz okoliša (87-91). U patogenezi alergijskog KD-a ističe se i uloga antimikrobnih peptida (AMP) koji nastaju kao proizvod različitih stanica kože (npr. keratinociti, sebociti). Utvrđeno je da AMP-i (koji su nastali u navedenim stanicama kože) potom prelaze, tijekom procesa upale, u kožne lezije (92,93). Osim toga, u patogenezi alergijskog KD-a u novije su vrijeme dobivene i spoznaje o tipovima imunosnih

odgovora na alergene. Najnovija istraživanja pokazuju da postoje različiti tipovi imunskih odgovora na pojedinačne alergene iako kliničke manifestacije ne ovise o vrsti uzročnog alergena. Npr. nikal stimulira imunosnu aktivaciju ponajprije komponenti Th1/Th17 i Th22. U tom složenom procesu sudjeluje niz čimbenika, kao što su alarmini, proteaze, imunoproteomi, međustanične veze, lipidi, pušenje itd. (78,93-95).

U našem istraživanju kod iritativnog KD-a u lezijama je uočen izraženiji CD44, a kod alergijskog KD-a utvrđena je teža klinička slika nego u iritativnom KD-u ( $P < 0,001$ ). Dokazanoj težoj kliničkoj slici alergijskog KD-a najviše su pridonijeli veća površina zahvaćene kože ( $P = 0,006$ ), češće korištenje sustavne kortikosteroidne terapije ( $P = 0,026$ ), veća izloženost alergenima ( $P < 0,001$ ) i izraženija ograničenja bolesnika u svakodnevnom radu ( $P = 0,001$ ). Ovaj negativan utjecaj dokazane veće zahvaćenosti kože kod alergijskog KD-a na težinu bolesti ( $P = 0,006$ ) može se povezati s činjenicom da je upravo kod ovog oblika KD-a tipično širenje promjena na okolnu kožu. Uočena veća upotreba sustavne kortikosteroidne terapije kod alergijskog KD-a povezana je s većom potrebom za njezinom primjenom u ovom obliku bolesti zbog alergijskog patomehanizma koji se može liječiti tim lijekovima. Negativan utjecaj veće izloženosti alergenima kod alergijskog KD-a ( $P < 0,001$ ) vezan je za stvari koje su često ubikvitarni alergeni i teško se izbjegavaju u svakidašnjem životu ili je posljedica neadekvatne brige bolesnika za izbjegavanje alergena. Negativan utjecaj, u konačnici dokazanog, većeg ograničenja bolesnika u svakodnevnom radu kod alergijskog KD-a ( $P = 0,001$ ) vezan je za sva navedena obilježja bolesti.

Velik problem u zdravstvenom sustavu predstavlja učestalost alergijskog KD-a i iritativnog KD-a, imajući u vidu da čine 5-15% svih upalnih dermatoza, ali i prateće tegobe koje ti bolesnici imaju, ponajprije zbog težine kliničke slike i smetnji poput svrbeža (1). Ove se bolesti javljaju učestalo u svim dobnim skupinama, pa čak i kod djece (96,97). Prema rezultatima novije studije u kojoj su praćena djeca s KD-om (na temelju iskustva i kliničkog pristupa oboljeloj djeci), pokazuje se potreba za redovitom dnevnom njegom primjenom različitih terapijskih mogućnosti koje se temelje na dijagnozi, kliničkoj težini i pojedinoj osobi (individualni pristup) (97).

Prema rezultatima nedavne studije s usporedbom kroničnog KD-a šaka s kliničkim pokazateljima i kvalitetom života, na temelju procjene nakon dvije godine, dobiveni su korisni podaci (98). Pokazalo se da se težina bolesti znatno ublažila i kvaliteta života bolesnika

poboljšala nakon navedenog razdoblja praćenja te je njih 20% imalo blagi do teški oblik bolesti.

Pritom su lošiji klinički tijek i kvaliteta života dokazani kod učestalog izlaganja čimbenicima iz okoliša, muškog spola, profesionalnih bolesti kože, prvih godina posla/rada, alergijskog KD-a, kroničnog tijeka bolesti, promjena na dlanovima i širenja promjena. Ističe se da su na bolest najveći negativan utjecaj imali čimbenici povezani s profesionalnim izlaganjem.

Prema nedavnom ispitivanju utjecaja KD-a šaka na kvalitetu života bolesnika u odnosu na mjesto života (život u velikom gradu u odnosu na manja mjesta), teži oblici profesionalnih KD-a šaka rjeđe su zabilježeni u velikim gradovima nego u manjima (99,100). Niska dermatološka kvaliteta života češće je zabilježena u velikim nego u manjim gradovima, što upućuje na to da je bolest negativnije djelovala na bolesnike u velikim gradovima (100). Prema drugoj, multicentričnoj studiji, koja je ispitivala težinu KD-a na šakama i kvalitetu života bolesnika u odnosu na spol, kvaliteta života nije se znatno razlikovala kod muškaraca i žena, ali se KD češće javljao kod muškaraca (101). Uočena je i značajna pozitivna korelacija između težine bolesti i dobi bolesnika, ali nije bilo značajne korelacije kvalitete života i dobi (101). Kvaliteta života izrazito je negativno utjecala na ove bolesnike i izrazito negativno korelirala s težinom bolesti. Ipak, uočeno je da negativan utjecaj bolesti na kvalitetu života lakše podnose žene (101). Imajući u vidu povezanost KD-a sa spolom, naši prijašnji rezultati ispitivanja o tome kako bolesnici njeguju kožu pokazali su da su žene češće upotrebljavale zaštitne kreme za ruke od muškaraca (97% u odnosu na 73%), vjerojatno zato što one općenito više vode računa o njezi kože (102).

Bolesnike s KD-om osobito je važno upozoriti na to da koža šake zahtijeva posebnu njegu i zaštitu (102). Kada se promjene pojave, treba ih pravodobno prepoznati i poduzeti odgovarajuće zaštitne mjere (zaštitna odjeća, mjere vezane uz rad i liječenje u skladu s kliničkom slikom i stanjem bolesnika) (103). Prema rezultatima našeg nedavno provedenog istraživanja, koje je obuhvatilo zdravstveno osoblje (stomatološke struke) s KD-om, znatan broj osoba koje su imale tu bolest (45%) nije ni posjetio dermatovenerologa, a još je više onih koji su sami sebi propisivali terapiju (103).

Bolesnici ponekad nisu ni svjesni da kožu trebaju zaštititi kremama i upotrebljavati sapune za osjetljivu kožu. Prema našim prijašnjim rezultatima, čak i zdravstveni djelatnici s KD-om

samo katkad rabe sapune za osjetljivu kožu (45%) iako je zdravstvenom osoblju njihova uporaba osobito preporučena (103). To je istraživanje pokazalo i da 61% ispitanika rijetko primjenjuje zaštitnu kremu, iako to njihovo stanje zahtijeva, što se može objasniti time da ne postoji adekvatna svijest o korisnim zaštitnim mjerama (104). Stoga bolesnicima treba kontinuirano naglašavati da je nužna zaštita epidermalne barijere kremama, osobito u slučaju iritativnog KD-a, jer se tako može čak i spriječiti pojava bolesti (104).

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) također preporučuje preventivne mjere i njegu kože, uključujući izbjegavanje određenih loših navika (pretjerano pranje ruku, uporaba tople vode, neodgovarajući postupci pri sušenju ruku, stavljanje rukavica, prekomjerno utrljavanje dezinficijensa itd.) (105). Postoje dokazi da su u sprečavanju pojave KD-a na šakama iznimno učinkoviti preventivni i edukativni programi o njezi kože i individualno savjetovanje (za alergične osobe savjetovanje na temelju alergoloških testiranja). Odgovarajuće mjere mogu poboljšati kvalitetu života i pozitivno utjecati na ublažavanje težine kožnih promjena, a ne smije se zaboraviti ni preventivno ponašanje u vezi sa zaštitom kože (pranje ruku, uporaba zaštitnih rukavica) (106).

Kada je riječ o alergološkim testiranjima, dio osoba s KD-om i promjenama kože šaka nije ni bio na alergološkim testiranjima unatoč opaženim promjenama (106). Ipak, važno je utvrditi jesu li i koji su alergeni odgovorni za promjene na koži, kako bi se oni nadalje izbjegavali. Nažalost, prema rezultatima drugih ispitivanja, osobe s profesionalnim alergijskim KD-om nisu potpuno svjesne važnosti alergološkog testiranja. Jedna danska studija pokazala je da se pojedini bolesnici s alergijskim KD-om nakon dvije godine nisu mogli sjetiti rezultata testiranja (104).

Istraživan je i negativan utjecaj KD-a na socioekonomsko opterećenje kod teškog kroničnog KD-a šaka; provedena je multicentrična studija s procjenom direktnog i indirektnog utjecaja (107). Prema dobivenim podacima, utvrđeni prosječni troškovi po bolesniku mjesečno su iznosili 418,3 eura, dok je gubitak produktivnosti bio 43,7 %, hospitalizacija 16,1%, a putovanje 10,3% (107). Najčešće posljedice KD-a uočene kod tih bolesnika bile su gubitak kvalitete života i produktivnosti. Ovi rezultati također pokazuju da je potrebno odgovarajuće liječiti KD, čime se mogu poboljšati kvaliteta života i produktivnost te smanjiti troškovi (107).

Imajući na umu učestalost alergijskog KD-a i iritativnog KD-a, posljedične troškove u sustavu i tegobe koje bolesnicima otežavaju život, ovo područje predstavlja kontinuirani znanstveni izazov. Stoga ova problematika zahtijeva daljnja istraživanja i otkrivanje novih terapijskih mogućnosti kako bi se bolesnicima poboljšala kvaliteta života i omogućilo normalno obavljanje svakodnevnih aktivnosti. Također treba naglasiti da je KD osobito velik problem kod radno aktivnog stanovništva jer zbog promjena na koži bolesnici izostaju s posla, a ponekad je nužna i promjena radnog mjesta. Stoga bi za mlade ljude koji se odlučuju za strukovna zanimanja (npr. frizer, pekar, soboslikar itd.) u sklopu profesionalne orijentacije trebalo uvesti i alergološko testiranje, tj. epikutani (patch) test. Time bi se pravodobno otkrila eventualna alergijska preosjetljivost i spriječilo izlaganje alergenima na koje se dokaže preosjetljivost te tako izbjegli problemi koje donosi alergijski KD, npr. izostanci s posla, recidivi bolesti, dugotrajna primjena kortikosteroidnih lokalnih pripravaka, a ponekad i sustavnih lijekova.

## **7. ZAKLJUČCI**

---



Rezultatima našeg istraživanja dokazali smo veću ekspresiju CD44 u bolesnika s kontaktnim dermatitisima u odnosu na vulgarnu psorijazu i zdravu kožu, pri čemu je uočena značajno veća ekspresija u iritativnom KD-u u odnosu na alergijski KD.

Uočena je statistički značajna razlika ( $P < 0,001$ ) u izraženosti CD44 u **epidermisu** u bolesnika s alergijskim KD-om i iritativnim KD-om u odnosu na bolesnike s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži. Pritom je najveća izraženost CD44 zabilježena u iritativnom KD-u, nakon kojeg slijedi alergijski KD.

Određivanje izraženosti CD44 u **dermisu** bolesnika s alergijskim KD-om i iritativnim KD-om te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži potvrđuju najveću izraženost CD44 u iritativnom KD-u, ali u znatno manjoj mjeri nego što je bila izraženost u epidermisu ( $P < 0,001$ ).

Određivanje izraženosti CD44 u **na limfocitima** bolesnika s alergijskim KD-om i iritativnim KD-om te kod bolesnika s vulgarnom psorijazom i u zdravoj koži ukazuje da je najjača izraženost CD44 bila kod iritativnog KD-a, a zatim kod psorijaze ( $P < 0,001$ ).

Naši rezultati nisu dokazali povezivost pojačane ekspresije CD44 i teže kliničke slike kontaktnih dermatitisa (zabilježene nakon godinu dana praćenja).

Alergijski KD manifestirao se težom kliničkom slikom u usporedbi s iritativnim KD-om ( $P < 0,001$ ), čemu su najviše pridonijele značajne razlike u zahvaćenosti kože ( $P = 0,006$ ), korištenje sustavne kortikosteroidne terapije ( $P = 0,026$ ), izloženost alergenima ( $P < 0,001$ ) te ograničenja u svakodnevnom radu ( $P = 0,001$ ).

## **8. LITERATURA**

---

1. Lugović Mihić L. Kontaktni dermatitisi U: Šitum M, i sur. *Dermatovenerologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2017. str.123-29.
2. Clark SC, Zirwas MJ. Management of occupational contact dermatitis. *Dermatol Clin*. 2009;27(3):365-83.
3. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the nomenclature review committee of the world allergy organization, october 2003. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(5):832-6.
4. Uzzaman A, Cho SH. Clasification of hypersensitivity reactiona. *Allergy Asthma Proc*. 2012;33:96-9.
5. Sabioncello A, Gagro A. n.d. "Mehanizmi nastanka alergijskih reakcija" (Internet) Dostupno na:<http://paperzz.com/doc/5162324/mehanizmi-nastanka-alergijskihreakcija> (pristupljeno 22.siječnja 2016.).
6. Meyer JD, Chen Y, Holt DI, Beck MH, Cherry NM. Occupational contact dermatitis in the UK: a surveillance report from EPIDERM and OPRA. *Occup Med*. 2000;50(4):265-73.
7. Turner S, Carder M, van Tongeren R, McName S, Lines L, Hussey A, et al. The incidence of occupational skin disease as reported The health and occupation reporting (THOR) network between 2002 and 2005. *Br J Dermatol*. 2007;157(4):713-22.
8. Japundžić I, Vodanović M, Lugović-Mihić L. An analysis of skin prick tests to latex and patch tests to rubber additives and other causative factors among dental professionals and students with contact dermatoses. *Int Arch Allergy Immunol*. 2018; 5:1-7.
9. Wentworth AB, Yiannias JA, Keeling JH, Hall MR, Camileri MJ, Drage LA, et al. Trends in patch-test results and allergen changes in the standard series: a Mayo Clinic 5-year retrospective review (January 1, 2006, to December 31,2010). *J Am Acad Dermatol*. 2014;70:269-75.
10. Bakula A, Lugović-Mihić L, Šitum M, Turčin J, Šinković A. Contact allergy in the mouth: diversity of clinical presentations and diagnosis of common allergens relevant to dental practice. *Acta Clin Croat*. 2011;50(4):553-61.
11. Šitum M, Lugović-Mihić L, Bulat V, Peternel R, Vojniković B, Martinis M, Toth I. Dermatological aspects of contact dermatitis from eyeglass frames and optical materials. *Coll Antropol*. 2013;37(1):19-24.
12. Budimir J, Mravak-Stipetić M, Bulat V, Ferček I, Japundžić I, Lugović Mihić L. Allergic reactions in oral and perioral diseases-What do allergy skin tests results show? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018 Aug 18. pii: S2212-4403(18)31122-2.
13. Aguilar-Bernier M, Bernal-Ruiz AI, Rivas-Ruiz F, Fernandez-Morano MT, de Trova-Martin M. Contact sensitization to allergens in the Spanish standard series at Hospital Costa del Sol in Marbella, Spain: a retrospective study (2005-2010). *Actas Dermosifiliogr*. 2012; 103(3):223-8.

14. Zug KA, Warshaw EM, Fowler JF Jr, Maibach HI, Belsito DL, Pratt MD, et al. Patchtest results of the North American Contact Dermatitis Group 2005-2006. *Dermatitis*. 2009;20(3):149-60.
15. Nonaka H, Nakada T, Iijima M, Maibach HI. Metal patch test results from 1990-2009. *J Dermatol*. 2011;38(3):267-71.
16. Yin R, Huang XY, Zhou XF, Hao F. A retrospective study of patch tests in Chongqing, China from 2004 to 2009. *Contact Dermatitis*. 2011; 65(1):28-33.
17. Carøe C, Andersen KE, Mortz CG. Fluctuations in the prevalence of nickel and cobalt allergy in eczema patients patch tested after implementation of the nickel regulation in Denmark. *Contact Dermatitis*. 2011; 64(3):126-31.
18. Uter W, Räämsch C, Aberer W, Avala F, Balato A, Beliauskiene A, et al. The European baseline series in 10 European Countries, 2005/2006--results of the European Surveillance System on Contact Allergies (ESSCA). *Contact Dermatitis*. 2009; 61(1):31-8.
19. Prakash AV, Davis MD. Contact dermatitis in older adults: a review of the literature. *Am J Clin Dermatol*. 2010; 11(6):373-81.
20. Becker D. Allergic contact dermatitis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2013;11(7):607-19.
21. Kostner L, Anzengruber F, Guillod C, Recher M, Schmid-Grendelmeier P, Navarini AA. Allergic contact dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2017;37(1):141-52.
22. Ljubojević Hadžavdić S, Pustišek N, Žužul K, Švigir A. Contact allergy: an update. *G Ital Dermatol Venereol*. 2018;153(3):419-28.
23. Vocanson M, Hennino A, Rozières A, Poyet G, Gaillard V, Renaudineau S, et al. Effector and regulatory mechanisms in allergic contact dermatitis. *Allergy*. 2009; 64(12):1699-714.
24. Wahbi A, Marcuson JA, Sunquist KG. Expression of adhesion molecules and their ligands in contact allergy. *Exp Dermatol*. 1996; 5(1):12-9.
25. Martin SF. Contact dermatitis from pathomechanisms to immunotoxicology. *Exp Dermatol*. 2012; (21):382-89.
26. Saint-Mezard P, Berard F, Dubois B, Kaiserlian D, Nicolas JF. The role of CD4+ and CD8+ T cells in contact hypersensitivity and allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol*. 2004; 14(3):131-8.
27. Jalkanen S, Saari S, Kalimo H, Lammintausta K, Vainio E, Leino R, et al. Lymphocyte migration into the skin. The role of lymphocyte homing receptor (CD44) and endothelial cell antigen (HECA-452). *J Invest Dermatol*. 1990; 94(6):786-92.
28. Man M, Elias MP, Man W, Wu Y, Bourguignon LY, Feingold K, et al. The role of CD44 in cutaneous inflammation. *Exp Dermatol*. 2009; 18(11):962-8.
29. Spring FA, Dalchau R, Daniels GL, Mallinson G, Judson PA, Parsons SF, et al. The Ina and Inb blood group antigens are located on a glycoprotein of 80,000MW (the CDw44 glycoprotein) whose expression is influenced by the In(Lu) gene. *Immunology*. 1998; 64(1):37-43.

30. Jokela T, Oikari S, Takabe P, Rilla K, Karna R, Tammi M, et al. Interleukin-1 $\beta$ -induced reduction of CD44 Ser-325 phosphorylation in human epidermal keratinocytes promotes CD44 homomeric complexes binding to Ezrin and extended monocyte adhesive hyaluronan coats. *J Biol Chem.* 2015;29(19): 12379-93.
31. Naor D, Nedvetzki S, Golan I, Melnik L, Fanitelson Y. CD44 in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2002; 39(6):527-79.
32. Kaya G, Grand D, Hotz R, Augsberger E, Carraux P, Didierjean L, et al. Upregulation of CD44 and hyaluronate synthases by topical retinoids in mouse skin. *J Invest Dermatol.* 2005; 124(1):284-7.
33. Kaya G, Tran C, Sorg O, Hotz R, Grand D, Carraux P, et al. Hyaluronate fragments reverse skin atrophy by a CD44-dependent mechanism. *PloS Med.* 2006; 3(12):2291303.
34. Barnes L, Tran C, Sorg O, Hotz R, Grand R, Carraux P, et al. Synergistic effect of hyaluronate fragments in retinaldehyde-induced skin hyperplasia which is a CD44 dependent phenomenon. *PloS One.* 2010; 5:e14372
35. Yin-Ping S, Yip GW. Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology. (slika s interneta) 2009, dostupno na: [www.atlasgeneticsoncology.org/CD44ID980CH11p13/](http://www.atlasgeneticsoncology.org/CD44ID980CH11p13/)
36. Bourguignon LYW. The Am J Pathol. (slika s interneta) 2014, dostupno na: [www.core.ac.uk/1912-1919DOI:10.1016/ajpath.2014.03.010](http://www.core.ac.uk/1912-1919DOI:10.1016/ajpath.2014.03.010)
37. Penneys NS. CD44 expression in normal and inflamed skin. *J Cutan Pathol.* 1993;20(3):250-3.
38. Slodownik D, Lee A, Nixon R. Irritant contact dermatitis: a review. *Australas J Dermatol.* 2008.;49(1):1-9.
39. Angelova-Fischer I, Stilla T, Kezic S, Fischer TW, Zillikens D. Barrier function and natural moisturizing factor levels after cumulative exposure to short-chain aliphatic alcohols and detergents: results of occlusion-modified tandem repeated irritation test. *Acta Derm Venereol.* 2016;96 (7):880-4.
40. Usatine RP, Riojas M. Diagnosis and management of contact dermatitis. *Am Fam Physician.* 2010;82(3):249-55.
41. Čeović R. Fototerapija u dermatologiji. *Medicus.* 2007;16(1):79-86.
42. Coons AH, Creech HJ, Jones RN, Berliner E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *J Immunol.* 1942; 45:159-70.
43. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature.* 1975;256(5517):495-7.
44. Rosai J. Kirurška patologija, prijevod 9. američkog izdanja, Školska knjiga. Zagreb; 2010: 44-64.
45. Stirling JW. Controls for immunogold labeling. *J Histochem Cytochem.* 1993; 41:1869-70.
46. Burry RW. Specificity controls for immunocytochemical methods. *J Histochem Cytochem.* 2000;48:163-6.

47. Ulfgren AK, Klareskog L, Lindberg M. An immunohistochemical analysis of cytokine expression in allergic and irritant contact dermatitis. *Acta Derm Venerol.* 2000; 80(3):167-70.
48. Lugović L, Lipozenčić J, Jakić-Razumović J. Atopic dermatitis: Immunophenotyping of inflammatory cells in skin lesions. *Int J Dermatol.* 2001; 40: 489-94.
49. Lugović L, Lipozenčić J, Jakić-Razumović J. Prominent involvement of activated Th1subset of T-cells and increased expression of receptor for IFN-gamma on keratinocytes in atopic dermatitis acute skin lesions. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005; 137(2):12533.
50. Gru AA, Salavaggione AL. Common spongiotic dermatoses. *Semin Diagn Pathol.* 2017; 34(3):226-36.
51. Ferguson J, Gibbs JH, Swanson Beck J. Lymphocyte subsets and Langerhans cells in allergic and irritant patch test reactions: histometric studies. *Contact Dermatitis.* 1985; 13:166–74.
52. Gawkrödger DJ, McVittie E, Carr MM, Ross JA, Hunter JA. Phenotypic characterization of the early cellular responses in allergic and irritant contact dermatitis. *Clin Exp Immunol.* 1986; 66:590–98.
53. Gerberick GF, Rheins LA, Ryan CA, Ridder GM, Haren M, Miller C, et al. Increases in human epidermal DR+CD1+, DR+ CD1-CD36+, and DR-CD3+cells in allergic reactions versus irritant patch test reactions. *J Invest Dermatol.* 1994; 103(4):524-9.
54. Seelentag WK, Gunthert U, Saremaslani P, Futo E, Pfaltz M, Heitz P, et al. CD44 standard and variant isoform expression in normal human skin appendages and epidermis. *Histochem Cell Biol.* 1996; 106(3):283-9.
55. Hoefakker S, Caubo M, van 't Erve EH, Roggeveen MJ, Boersma WJ, van Joost T, et al. In vivo cytokine profiles in allergic and irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 1995; 33(4):258-66.
56. Pichowski JS, Cumberbatch M, Basketter DA, Kimber I. Investigation of induced changes in interleukin 1beta mRNA expression by cultured human dendritic cells as in vitro approach to skin sensitization testing. *Toxicol In Vitro.* 2000; 14(4):351-60.
57. Liu J, Harberts E, Tammaro A, Girardi N, Filler RB, Fischelevich R, et al. IL-9 regulates allergen-specific Th1 responses in allergic contact dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2014; 134(7):1903-11.
58. Dhingra N, Shemer A, Correa da Rosa J, Rozenblit M, Fuentes-Duculan J, Gittler JK, et al. Molecular profiling of contact dermatitis skin identifies allergen-dependent differences in immune response. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(2):362-72.
59. Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T, Andersen KE, Bircher A, Bruze M, et al. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing – recommendations on best practice. *Contact Dermatitis.* 2015; 73:195–221.
60. Mihić J, Rotim K, Vučić M, Novak-Bilić G, Lugović Mihić L. Značenje angiogeneze i ekspresije CD44 u glioblastomu. *Acta Med Croatica.* 2017; 71(3):201-7.

61. Sreaton GR, Bell MV, Jackson DG, Cornelis FB, Gerth U, Bell JI. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992; 89:12160-64.
62. Teye K, Numata S, Ishii N, Krol PR, Tsuchisaka A, Hama T et al. Isolation of all CD44 transcripts in human epidermis and regulation of their expression by various agents. *PLoS ONE* 2016; 11(8):e0160952 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160952>
63. Ponta H, Sherman L, Herlich PA. CD44: From adhesion molecules to signalling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003; 4:33-45.
64. Frings VG, Boer-Auer A, Breuer K. Histomorphology and immunophenotype of eczematous skin lesions revisited-skin biopsies are not reliable in differentiating allergic contact dermatitis, irritant contact dermatitis and atopic dermatitis. *Am J Dermatopathol*. 2018; 40(1):7-16.
65. Chen L, Martinez O, Venkataramani P, Lin SX, Prabhakar BS, Chan LS. Correlation of disease evolution with progressive inflammatory cell activation and migration in the IL-4 transgenic mouse model of atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol*. 2005; 139(2):189-201.
66. Sumigray KD, Lechler T. Cell adhesion in epidermal development and barrier formation. *Curr Top Dev Biol*. 2015; 112:383-414.
67. Elentner A, Schmuth M, Yannoutsos N, Eichmann TO, Gruber R, Radner FPW, et al. Epidermal overexpression of xenobiotic receptor PXR impairs the epidermal barrier and triggers Th2 immune response. *J Invest Dermatol*. 2018;138(1):109-20.
68. Jurakić Tončić R, Kezić S, Ljubojević Hadžavdić S, Marinović B. Skin barrier and dry skin in the mature patient. *Clin Dermatol*.2018;36(2):109-15.
69. Kirschner N, Haftek M, Niessen CM, Behne MJ, Furuse M, Moll I, et al. CD44 regulates tight-junction assembly and barrier function. *J Invest Dermatol*. 2011; 131(4):932-43.
70. Bäsler K, Brandner JM. Tight junctions in skin inflammation. *Pflugers Arch*. 2017; 469(1):3-14.
71. Tremmel M, Matzke A, Albrecht I, Laib AM, Olaku V, Ballmer-Hofer K, et al. A CD44v6 peptide reveals a role of CD44 in VEGFR-2 signaling and angiogenesis. *Blood*. 2009; 10:114(25):5236-44.
72. Norden AD, Young GS, Setayesh K, Muzikansky A, Klufas R, Ross GL, et al. Bevacizumab for recurrent malignant gliomas: efficacy, toxicity and patterns of recurrence. *Neurology*. 2008; 4:70(10):779-87.
73. Bourguignon LYW. Matrix hyaluronan-activated CD44 signaling promotes keratinocyte activities and improves abnormal epidermal functions. *The Am J Pathol*.2014;184(7):1912-19.
74. Tammi R, Paukkonen K, Wang C, Horsmanheimo M, Tammi M. Hyaluronan and CD44 in psoriatic skin. Intense staining for hyaluronan on dermal capillary loops and reduced expression of CD44 and hyaluronan in keratinocyte-leukocyte interfaces. *Arch Dermatol*.1994; 286(1):21-9.

75. Pasonen-Seppane S, Hyttinen MT, Rilla K, Jokela T, Noble WP, Tammi M. Role of CD44 in the organization of keratinocyte pericellular hyaluronan. *Histochem Cell Biol.* 2012;137(1):107-20.
76. Shatirishvili M, Burk AS, Franz CM, Pace G, Kastilan T, Breuhahn K, et al. Epidermal specific deletion of CD44 reveals a function in keratinocytes in response to mechanical stress. *Cell Death Disease.* 2016; 7e2461 doi:10.1038/cddis.2016.342
77. Sneath RJ, Mangham DC. The normal structure and function of CD44 and its role in neoplasia. *Mol Pathol.* 1998; 51:191-200.
78. Zimmer KA, Armbrecht ES, Burkemper NM. The association of smoking with contact dermatitis and hand eczema - a review. *Int J Dermatol.* 2018;57(4):37587.
79. Kenichi K, Tatsuya H, Hiroaki S, Ryota M, Kazutaka K, Taknor E, et al. Possible immune regulation of natural killer T cells in a murine model of metal ion-induced allergic contact dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2016. 17(1). pii:87. doi:10.3390/ijms17010087
80. Zoller M, Gupta P, Marhaba R, Vitacolonna M, Freyschmidt P. Anti-CD44-mediated blockade of leukocyte migration in skin-associated immune diseases. *J Leukoc Biol.* 2007;82(1):57-71.
81. Roesel M, Seiter S, Zoller M. CD44v10 expression in the mouse and functional activity in delayed type hypersensitivity. *J Cell Physiol.* 1997;171(3):305-17.
82. Gee K, Kryworuchko M, Kumar A. Recent advances in the regulation of CD44 expression and its role in inflammation and autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp.* 2004;52(1):13-26.
83. Gal I, Lesley J, Ko W, Gonda A, Stoop R, Hyman R, et al. Role of the extracellular and cytoplasmic domains of CD44 in the rolling interaction of lymphoid cells with hyaluronan under physiologic flow. *J Biol Chem.* 2003; 278(13):11150-8.
84. Mohamadzadeh M, DeGrendele H, Arizpe H, Estess P, Siegelman M. Proinflammatory stimuli regulate endothelial hyaluronan expression and CD44/HA-dependent primary adhesion. *J Clin Invest.* 1998; 101(1):97-108.
85. Shimonaka M, Katagiri K, Nakayama T, Fujita N, Tsuruo T, Yoshie O, et al. Rap 1 translates chemokine signals to integrin activation, cell polarization, and motility across vascular endothelium under flow. *J Cell Biol.* 2003;161(2):417-27.
86. Estess P, Nandi A, Mohamadzadeh M, Siegelman MH. Interleukin 15 induces endothelial hyaluronan expression in vitro and promotes activated T cell extravasation through a CD44-dependent pathway in vivo. *J Exp Med.* 1999;190(1):9-19.
87. Mostosi C, Simonart T. Effectiveness of barrier creams against irritant contact dermatitis. *Dermatology (Basel).* 2016; 232(3):353-62.
88. Rundle CW, Bergman D, Goldenberg A, Jacob SE. Contact dermatitis considerations in atopic dermatitis. *Clin Dermatol.* 2017; 35(4):367-74.
89. Heede NG, Thyssen JP, Thuesen BH, Linneberg A, Szecsi PB, Stender S, et al. Health-related quality of life in adult dermatitis patients stratified by filaggrin genotype. *Contact Dermatitis.* 2017; 76(3):167-77.



90. Mowad CM, Anderson B, Scheinman P, Pootongkam S, Nedorost S, Brod B. Allergic contact dermatitis: patient diagnosis and evaluation. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(8):1029-40.
91. Saint-Mezard P, Rosieres A, Krasteva M, Berard F, Dubois B, Kaiserlian D, et al. Allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol.* 2004; 14(5):284-95.
92. Koppes SA, Engebretsen KA, Agner T, Angelova-Fischer I, Berents T, Brandner J, et al. Current knowledge on biomarkers for contact sensitization and allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 2017; 77(1):1-16.
93. Dombrowski Y, Koglin S, Ruzicka T, Schaubert J. Alarmins and their role in inflammatory skin diseases. *Akt Dermatol.* 2010; 36(12):467-70.
94. Kumagai K, Horikawa T, Shigematsu H, Matsubara R, Kitaura K, Eguchi T, et al. Possible immune regulation of natural killer T cells in a murine model of metal induced allergic contact dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(1).pii:E87. doi:10.3390/ijms17010087
95. Wang J, Suárez-Fariñas M, Estrada Y, Parker ML, Greenlees L, Stephens G, et al. Identification of unique proteomic signatures in allergic and non-allergic skin disease. *Clin Exp Allergy.* 2017; 47(11):1456-67.
96. Galimberti F, Guren I, Fernandez A, Sood A. Dermatology consultations significantly contribute quality to care of hospitalized patients: a prospective study of dermatology inpatient consults at a tertiary care center. *Int J Dermatol.* 2016; 55(10):547-51.
97. Ruggiero G, Carnevale C, Diociaiuti A, Arcangeli F, El Hachem M. Prospective multicenter survey on the clinical management of pediatric contact dermatitis. *Minerva Pediatr.* 2016; 68(6):412-8.
98. Cazzaniqa S, Ballmer-Weber BK, Grani N, Spring P, Bircher A, Anliker M, et al. Chronic hand eczema: A prospective analysis of the Swiss CARPE registry focusing on factors associated with clinical and quality of life improvement. *Contact Dermatitis.* 2018;25.doi:10.1111/cod.13041.
99. Mahler V, Aalto-Korte K, Alfonso J, Bakker JG, Bauer A, Bensefa-Colas L, et al. Occupational skin diseases: actual state analysis of patient management pathways in 28 European countries. *JEADV.* 2017; 31(4):12-30.
100. Norreslet LB, Agner T, Sorensen JA, Ebbelohj NE, Bonde JP, Fisker MH. Impact of hand eczema on quality of life: metropolitan areas. *Contact Dermatitis.* 2018;78(5):348-54.
101. Agner T, Andersen KE, Brandao FM, Bruynzeel DP, Bruze M, Frosch P, et al. Hand eczema severity and quality of life. a cross-sectional. Multicentre study of hand eczema patients. *Contact Dermatitis.* 2008;59(1):43-7.
102. Japundžić I, Novak D, Kuna M, Novak-Bilić G, Lugović-Mihić L. Analysis of dental professionals' and dental students' care for their skin. *Acta Stomatol Croat.* 2018; 52(1):46-52.
103. Brasch J, Becker D, Aberer W, Bircher A, Kränke B, Jung K, et al. Guideline contact dermatitis: S1-Guidelines of the German Contact Allergy Group (DKG) of

- the German Dermatology Society (DDG), the Information Network of Dermatological Clinics (IVDK), the German Society for Allergy and Clinical Immunology (DGAKI), the Working Group for Occupational and Environmental Dermatology (ABD) of the DDG, the Medical Association of German Allergologists (AeDA), the Professional Association of German Dermatologists (BVDD) and the DDG. *Allergo J Int.* 2014;23(4):126-38.
104. Brok L, Clemmensen KK, Carøe TK, Ebbenhøj NE, Agner T. Occupational allergic contact dermatitis in a 2-year follow-up study: How well does the patient remember the result of patch testing? *Contact Dermatitis.* 2016;75(1):41-7.
  105. Jordan L. Efficacy of a hand regimen in skin barrier protection in individuals with occupational irritant contact dermatitis. *J Drugs Dermatol.* 2016;15(11):81-5.
  106. Ibler KS, Jemec GB, Diepgen TL, Glud C, Lindschou Hansen J, Winkel P, et al. Skin care education and individual counselling versus treatment as usual in healthcare workers with hand eczema: randomised clinical trial. *BMJ.* 2012 12;345:e7822.
  107. Cortesi PA, Scalone L, Belisari A, Bonamonte D, Cannavo SP, Cristaudo A, et al. Cost and quality of life in patients with severe chronic hand eczema refractory to standard therapy with topical potent corticosteroid. *Contact Dermatitis.* 2014;70(3):158-68.

## **9. ŽIVOTOPIS**

---

Gaby Novak-Bilić rođena je u Brilonu, SR Njemačka, 2. studenog 1972. godine. Osnovnu školu završila je u Pregradi, a srednju u Centru za odgoj i obrazovanje u kulturi u Zagrebu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 1991. i na istom je diplomirala 1997. Obvezni jednogodišnji pripravnički staž obavila je u Domu zdravlja Pregrada. Stručni ispit položila je 1998.

Nakon položenog stručnog ispita obavljala je volonterski rad na Klinici za internu medicinu KBC Sestre milosrdnice u razdoblju od dvije godine, a potom do 2002. godine radila je u Ambulanti opće medicine i u dežurnoj službi Doma zdravlja Krapina. Specijalizaciju iz dermatovenerologije započela je 2002. godine na Klinici za kožne i spolne bolesti KBC Sestre milosrdnice, a 2006. godine položila specijalistički ispit. Tijekom specijalizacije završila je stručni poslijediplomski studij iz dermatovenerologije i 2008. godine obranila magistarski rad na temu "Naevus dysplasticus - preteča melanoma, naša iskustva" Od 2003. godine djelatnica je OB Zabok i bolnice hrvatskih veterana u kojoj je od 2009. godine voditeljica ambulante za dermatovenerologiju. Sudjelovala je na brojnim stručnim skupovima i simpozijima te tečajevima za trajno usavršavanje.

2016. godine izabrana je u naslovno suradničko zvanje asistenta iz znanstvenog područja Biomedicina i zdravstvo, znanstveno polje kliničke medicinske znanosti u Katedri za sestrinstvo, medicinsku etiku i palijativnu medicinu na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

2018. godine izabrana je u naslovno suradničko zvanje asistenta iz znanstvenog područja Biomedicina i zdravstvo, znanstveno polje kliničke medicinske znanosti, znanstvena grana dermatovenerologija na Fakultetu za dentalnu medicinu i zdravstvo Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Objavila je nekoliko radova u indeksiranim časopisima u Hrvatskoj i inozemstvu. Udata je i majka dvoje djece.

## Popis radova:

### Objavljeni članci u časopisima i poglavlja u knjigama

1. Novak-Bilić G, Vučić M, Japundžić I, Meštrović-Štefekov J, Stanić Duktaj S, Lugović- Mihić L. Irritant and allergic contact dermatitis-skin lesion characteristic. *Acta Clin Croat.* 2018; (rad prihvaćen, u tisku)
2. Meštrović-Štefekov J, Pap N, Lugović-Mihić L, Novak-Bilić G, Kuna M. Psychological Stress in atopic dermatitis. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2018; (rad prihvaćen, u tisku)
3. 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):35-89.
4. 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):35-89.
5. Japundžić I, Novak D, Kuna M, Novak-Bilić G, Lugović Mihić L. Analysis of dental professionals' and dental students' care for their skin. *Acta Stomatol Croat.* 2018;52(1):46-52.
6. Lugović Mihić L, Budimir J, Novak-Bilić G. Kontaktne reakcije s manifestacijama na koži perioralne i oralne regije. U: Lugović Mihić L, Šitum M. (ur). *Bolesti kože s promjenama na licu i usnoj šupljini.* Zagreb: Medicinska naklada. 2017;16-27.
7. Mihić J, Rotim K, Vučić M, Novak-Bilić G, Lugović Mihić L. Značenje angiogeneze i ekspresije CD44 u glioblastomu. *Acta Med Croat.* 2017;71(3):201-7.
8. Lugović Mihić L, Ferček I, Duvančić T, Bulat V, Ježovita J, Novak-Bilić G, et al. Occupational contact dermatitis amongst dentists and dental technicians. *Acta Clin Croat.* 2016;55(2):293-300.
9. Gregurek-Novak T, Novak-Bilić G, Vučić M. Dermatitis artefacta: unusual appearance in an older woman. *J Eur Acad Dermat Venerol.* 2005; 19(2):223-25.
10. Hrabar D, Duvnjak M, Pavić T, Ljubičić N, Troskot N, Novak-Bilić G, et al. Citološka punkcija žarišnih promjena u jetri i gušterači pod kontrolom ultrazvuka. *Acta Med Croat.* 2001;131.

### **Sažetci na kongresima i drugim skupovima**

1. Lugović Mihić L, Japundžić I, Novak-Bilić G, Buljan M, Duvančić T. How do dental workers and students care for their skin? 27th EADV Congress. 2018; Paris, France, poster
2. Meštrović-Štefekov J, Pap N, Lugović-Mihić L, Novak-Bilić G, Kuna M. The role of psychological stress in atopic dermatitis. 6th Congress of Croatian Dermatovenereologists with International Participation; 2018 October 4-7; Pula, poster
3. Novak-Bilić G, Vučić M, Japundžić I, Stanić Duktaj S, Meštrović-Štefekov J, Lugović-Mihić L. The role of CD44 in contact dermatitis. 6th Congress of Croatian Dermatovenereologists with International Participation; 2018 October 4-7; Pula, poster
4. Novak-Bilić G, Stanić Duktaj S, Bradamante M, Bukvić I, Lugović-Mihić L. A Case of cutaneous pseudolymphoma in a woman. 6th Congress of Croatian Dermatovenereologists with International Participation; 2018 October 4-7; Pula, poster
5. Novak-Bilić G, Lugović-Mihić L, Pap N, Vučić M, Stanić Duktaj S. Contact dermatitis as a result of complex pathogenetic pathways. HDIR-5: „Translating Science to Medicine- Targets and Therapeutics“. Fifth Meeting of the Croatian Association for Cancer Research with International Participation; 2018 November 8-10; Zagreb, poster
6. Novak-Bilić G, Stanić Duktaj S, Pap N, Bradamante M, Lugović-Mihić L. How to manage patients with cutaneous pseudolymphoma? HDIR-5: „Translating Science to Medicine- Targets and Therapeutics“. Fifth Meeting of the Croatian Association for Cancer Research with International Participation; 2018 November 8-10; Zagreb, poster