

Iritativni kontaktni dermatitis: od mehanizmov do vrednotenja iritantov

Irritative contact dermatitis: from mechanisms of irritation to irritants' assessment

Mirjam Gosenca, Mirjana Gašperlin, Julijana Kristl

Povzetek: Koža je največji in tudi najvidnejši organ človeškega telesa, katere glavna naloga je zaščita organizma pred škodljivimi zunanjimi vplivi. Zaradi pogostih stikov s številnimi snovmi so tudi vnetne reakcije na koži številne. Iritativni kontaktni dermatitis je definiran kot neposredna vnetna reakcija izzvana ob stiku z iritantom. Klinična slika se razlikuje glede na značilnosti dražeče snovi, okolja ter organizma samega. Iritant je lahko katerakoli snov, ki poškoduje celice, če je v stiku s kožo v zadostni koncentraciji in dovolj dolgo. Iritativni kontaktni dermatitis, ki zajema kar 80% vseh kontaktnih dermatitisov, je v članku predstavljen kot biološki proces z značilno patofiziologijo in klinično sliko. Opisana sta dva bistvena mehanizma, vpletena v njegov nastanek, in sicer poškodba zaščitne plasti kože ter neposredni učinki iritantov na celice kože. Ravno poglobljeno razumevanje iritativnega kontaktnega dermatitisa na celični oziroma molekularni ravni omogoča napredek na področju razvoja novih alternativnih metod za vrednotenje draženja kože.

Ključne besede: iritacija, koža, kontaktni dermatitis, mehanizmi, vrednotenje iritantov

Abstract: The skin is the largest as well as prominent organ of human body, most importantly protecting us from harmful environmental hazards. Cutaneous inflammatory reactions are common adverse effect in humans due to frequent contacts with heterogeneous substances. Irritative contact dermatitis is a term used to describe any inflammatory reaction resulting from skin contact with an irritant. It reflects in different clinical entities with respect to irritant properties, environment and the host organism itself. An irritant is any agent, physical or chemical, that is capable of producing cell damage, if applied for sufficient time and in sufficient concentrations. Irritative contact dermatitis that accounts for approximately 80% of clinically recognized contact dermatitis is presented as biological event with a distinct pathophysiology and clinical appearance. Two distinct pathways by which irritants initiate and modulate irritation, i.e. via damage of the barrier function of stratum corneum and by direct effects of irritants on cells of the skin, are introduced. Moreover, only in-depth understanding of irritative contact dermatitis on cellular and molecular level can lead to novel alternative models for skin irritation assessment.

Key words: irritation, skin, contact dermatitis, mechanisms, irritants' assessment

1 Uvod

Koža je glede na površino telesa največji človeški organ, predstavlja pregrado med notranjostjo organizma in zunanjim okoljem ter s tem ščiti pred škodljivimi zunanjimi vplivi. Poleg tega aktivno sodeluje pri obrambi telesa z lokalnim imunskim odgovorom.

Iritacija oziroma draženje kože je biološki odziv na številne zunanje dejavnike, ki lahko povzročajo vnetje kože. Nekdaj so iritacijo kože dojemali kot enostaven proces, danes pa predstavlja zapleten biološki odziv z značilno patofiziologijo in klinično sliko (1), podprt z več kot 3300 znanstvenimi objavami (2). Kontaktni dermatitis je nespecifičen izraz za vsako vnetje kože kot posledica stika z iritantom ali alergenom (3). Iritativni kontaktni dermatitis (IKD) je vnetni odziv kože na dražeče dejavnike iz okolja, kemične ali fizikalne narave. Alergijski kontaktni dermatitis pa je posledica alergijske preobčutljivostne reakcije kože, za katero je potrebna predhodna senzibilizacija celic imunskega sistema (4). Včasih je celo veljalo, da IKD ne vključuje imunološkega odziva,

medtem ko je danes splošno sprejeto, da ima imunski sistem ključno vlogo pri vsakem vnetnem odzivu, le spominski limfociti T ali antigensko specifični imunoglobulini niso udeleženi pri IKD (5,6).

Moderen način življenja terja stike s številnimi snovmi, in v določenih primerih lahko pride do vnetnega odgovora kože bodisi na podlagi alergijske bodisi zgolj neposredne vnetne reakcije kot posledice stika z dražečo snovjo. Med vsemi kontaktnimi dermatitisi gre kar v 80% za IKD. Močno je povezan s poklicno izpostavljenostjo (frizerstvo, čistilstvo, tiskarstvo, pleskarstvo in drugo), kjer so ljudje nenehno izpostavljeni stiku z znanimi, specifičnimi iritanti. Klinični spekter kožnih sprememb je širok, zato razlikujemo več vrst IKD. Ločimo akutni (toksični) IKD, kjer je koža enkrat intenzivno izpostavljena agresivnim škodljivim dejavnikom in kronični (kumulativni) IKD, kjer se bolezen razvije po dolgotrajnem ali ponavljajočem se stiku kože z blažjim iritantom. V primeru akutnega IKD je klinična slika raznolika, koža je lahko le nekoliko bolj izsušena, pordela, lahko pa nastanejo tudi mehurji in oteklina (slika 1a). Začetna reakcija je

največkrat strogo omejena na mesto stika z iritantom, saj koncentracija snovi izven mesta stika izjemno hitro pade pod kritični prag, potreben za sprožitev vnetne reakcije. Take spremembe na koži izzvenijo v nekaj dneh ali tednih. Kljub različnemu nastanku in razvoju bolezni sta klinični sliki alergijskega kontaktnega dermatitisa in akutnega IKD izrazito podobni. Nasprotno pa je za kronični IKD značilna suha, pordela, razpokana, luščiča se in zadebeljena koža. Najpogosteje je prizadeta izpostavljena koža na rokah, še posebej pri ljudeh, ki imajo že sicer bolj suho in občutljivo kožo (slika 1b). Kljub izogibanju stika z iritantom, lahko vnetna reakcija poteka več let. Dodatno razlikujemo še med simptomatskimi (subjektivnimi) iritativnimi reakcijami, kjer zgolj določeni posamezniki zaznajo hudo pekočo bolečino v nekaj sekundah ali minutah po stiku s specifičnimi kemikalijami (kloroform, metanol, klorovodikova in retinojska kislina) ter primarnimi kemičnimi opeklinami z značilnimi hudimi poškodbami kože (bolečine oziroma pekočine, na mestu stika vidimo rdečino, oteklino, mehurje, nekrotično tkivo), ki jih povzročijo močne kisline in baze (5,7).



Slika 1: Klinična slika pri iritativnem kontaktnem dermatitisu:
a) akutna oblika; b) kronična oblika.

Figure 1: Clinical manifestation of irritant contact dermatitis:
a) acute form; b) chronic form.

Na obliko in stopnjo kožne reakcije vplivajo tako zunanji kot notranji dejavniki. Med zunanjimi dejavniki so najpomembnejše strukturne in kemijske lastnosti iritanta, predvsem tiste, ki vplivajo na dermalno absorpcijo (molekulska masa, polarnost, ionizacija, medij oziroma agregatna oblika dražeče snovi), koncentracija in trajanje stika. Mehanski, toplotni in klimatski (temperatura, vlažnost) dejavniki pa lahko tako reakcijo še dodatno spreminjajo. Kožni odgovor na lokalno draženje je seveda zelo raznolik in odvisen tudi od notranjih dejavnikov, in sicer od mesta draženja (določeni predeli telesa so bistveno bolj občutljivi), starosti, spola, rase ter morebitnih kožnih bolezni (7, 8).

2 Iritanti - snovi, odgovorne za nastanek iritativnega kontaktnega dermatitisa

Iritant je katerakoli snov, ki lahko poškoduje celice, če je v stiku s kožo v zadostni koncentraciji in dovolj dolgo (3). Glede na Direktivo o nevarnih

snoveh imajo spojine, ki dokazano povzročajo iritacijo kože, oznako R38, spojine, ki niso iritabilne pa NC («not classified») (9). Nabor spojin, ki lahko sprožijo iritacijo, je zelo velik, hkrati pa so strukturno zelo različne, tako da zgolj na podlagi kemijske strukture ne moremo sklepati na njihov iritacijski potencial. Raziskave na tem področju so usmerjene v določitev kvantitativnega razmerja med strukturo in aktivnostjo (QSAR), kar omogoča napovedovanje stopnje iritacije posameznih molekul. QSAR raziskave so aktualne zlasti znotraj določenih skupin spojin, ki pogosteje sprožijo IKD (organske baze in kisline) (10). Dejansko je vsaka snov potencialni iritant, med njimi najpogosteje površinsko aktivne snovi (PAS), industrijska čistila, organska topila, kisline/baze, oksidanti/reducenti, celo zdravilne učinkovine za dermalno uporabo, recimo ditranol, kalijev permanganat, po daljšem času pa tudi voda.

2.1 Površinsko aktivne snovi kot iritanti

Zaradi svojega delovanja so PAS prisotne v večini izdelkov, ki pridejo v stik s človeško kožo (zdravila in kozmetični izdelki, izdelki za nego in čiščenje telesa, čistila), in za razliko od ostalih dražečih snovi izzovejo iritacijo po različnih mehanizmih. Površinsko aktivne snovi lahko v stiku s kožo povzročijo iritacijo kože zaradi vezave in denaturacije proteinov, porušena urejene strukture lipidnih dvojnih plasti in prodiranja v spodnje plasti kože ter interakcije s celicami. Različne PAS izzovejo različne odzive. Razlog je očitno v razlikah v kemijski strukturi, in sicer v povezavi s kritično micelarno koncentracijo, strukturo hidrofobne verige in polarne glave (11, 12). V raztopini so proste molekule PAS v dinamičnem ravnotežju s tistimi, ki so asociirane v micela. Dokazano je, da imajo pri iritaciji kože ključno vlogo posamezne molekule PAS, ne glede na mehanizem interakcije s kožo. Zgolj posamezne molekule se adsorbirajo na beljakovine v koži, plato vezave je namreč blizu ali pri kritični micelarni koncentraciji. Če so posamezne molekule manjše, lažje prodirajo v medcelični prostor ter porušijo urejeno zgradbo lipidnega dvosloja. Enako velja tudi za micela z ustrezno majhnim hidrodinamskim premerom (12). Za vrednotenje iritantov se kot zlati standard uporablja natrijev lavrilsulfat (SDS); 20% raztopina SDS ima oznako R38 in služi kot pozitivna kontrola pri epikutanem testiranju (12-15). S tega vidika je torej očitna težnja k uporabi biokompatibilnih PAS. Med farmacevtsko najsprejemljivejšimi emulgatorji so fosfolipidi (lecitin, izolecitin), zanimiv primer pa predstavlja načrtna sinteza lizinskih derivatov lecitina, ki so na celičnih kulturah izkazali manjši iritacijski potencial v primerjavi s SDS (16).

2.2 Voda kot iritant?

Voda je načeloma neškodljiva za kožo, ustreza hidracija rožene plasti je celo nujna za vzdrževanje homeostaze kože. Daljša izpostavljenost (več ur ali dni) pa lahko privede do nabrekanja in povečanja prožnosti rožene plasti, povezave med korneociti oslabijo zaradi razgradnje dezmosomov. Spremeni se tudi morfologija kože; poveča se debelina vrhnjice ter medceličnega prostora, povečajo se celice imunskega sistema v vrhnjici, kaže se vpliv na aktivnost Langerhansovih celic. V usnjici nastane oteklina, poveča se število makrofagov in Langerhansovih celic. Zaščitna vloga kože se zmanjša predvsem zaradi porušena lipidnega dvosloja rožene plasti. Slednje se odraža v povečani permeabilnosti ter dovetnosti za iritante, zaradi česar se poveča verjetnost za nastanek IKD (17).

2.3 Kozmetični izdelki kot iritanti

Prav tako ne moremo mimo dermatitsov, povzročenih s kozmetičnimi izdelki, ki jih uporablja že vsak izmed nas. Proizvodnja teh je velikanska,

Preglednica 1: Glavne skupine potencialnih iritantov in/ali alergenov v kozmetičnih izdelkih (19).

Table 1: Common potential cosmetic irritant and/or allergen ingredients (19).

SKUPINE SESTAVIN KOZMETIČNIH IZDELKOV	PREDSTAVNIKI
Konzervansi	formaldehid, parabeni, imidazolidinil sečnina
Antioksidanti	α-tokoferol, propil galat, butilhidroksitoluen, butilhidroksianizol
Dišave	benzilbenzoat, cinamil alkohol, heksil cinamal
Barve za lase	m-aminofenol, toluen-2,5-diamin, pirokatehol, kana
UV filtri	derivati p-aminobenzojske kisline, benzofenoni
Lipidi/emolienti	lanolin in njegovi derivati
Vlažilci	propilenglikol
Specifične sestavine: belila, keratolitiki...	α-hidroksi kisline

oglaševanje agresivno. Zavedati se moramo, da obstaja več tisoč različnih spojin, ki jih uporabljajo v kozmetičnih izdelkih. Hkrati je evropska zakonodaja na tem področju zelo stroga, urejena s kozmetično direktivo (76/768/EEC), ki jo bo prihodnje leto nadomestila Uredba EC 1223/2009. Spojine so glede na dovoljeno uporabo v kozmetičnih izdelkih tako razvrščene v posamezne skupine, ki jih urejajo dodatki h kozmetični direktivi: *dodatek 2* se nanaša na spojine, ki jih kozmetični izdelki ne smejo vsebovati, v *dodatku 3* pa so navedene spojine, katerih uporaba je omejena glede na mesto nanosa. Razvrstitev temelji na podlagi mnenja, ki ga poda Znanstveni odbor za varnost potrošnikov (SCCS) (9). Hkrati ima kozmetična industrija tudi velik ekonomski interes, da proizvaja kakovostne in varne izdelke, vendar kljub obsežnemu testiranju tako posameznih sestavin kot končnih izdelkov še vedno lahko nastopi kontaktni dermatitis. Problematični so predvsem izdelki, ki jih po uporabi ne speremo (npr. kreme za obraz) oziroma jih nanesemo na večjo površino (npr. mleko za telo, varovalni izdelki za sončenje). Glavne skupine iritantov v kozmetičnih izdelkih so navedene v preglednici 1. Iritativni kontaktni dermatitis pri uporabi kozmetičnih izdelkov navadno nastopi po večkratnem nanosu iritanta, je pa zelo težko postaviti ločnico med IKD in alergijskim kontaktnim dermatitisom. Določene spojine delujejo kot iritanti, istočasno pa lahko izzovejo alergijsko reakcijo (npr. cimetna kislina, večina spojin iz preglednice 1). Diagnosticiranje dermatitisa je v domeni dermatologov. Zaradi lažje opredelitve potencialnih alergenov in iritantov pa šesti amandma h kozmetični direktivi zahteva, da so na kozmetičnem izdelku navedene vse sestavine, kar posamezniku omogoča možnost izbire ustreznega kozmetičnega izdelka (18, 19).

2.4 Zdravljenje iritativnega kontaktnega dermatitisa

Zdravljenje IKD je lokalno in odvisno od kroničnosti/akutnosti dermatitisa. Sistemsko zdravljenje praviloma ni potrebno. Akutni IKD velikokrat nastopi zaradi nepazljivega ravnanja z agresivnimi iritanti. Delovanje vzročnega iritanta moramo nemudoma prekiniti ter preprečiti ponovno izpostavljanje. Pri simptomatskem lokalnem zdravljenju se ravnamo po stopnji in vrsti patoloških sprememb. Na prizadetih predelih na začetku zdravljenja večkrat dnevno menjavamo hladne obkladke (npr. s fiziološko raztopino). Močnejše vnete predele do umiritve vnetja (nekaj dni) mažemo s kortikosteroidnimi hidrofilnimi kremami, nato preidemo na negovalne kreme in mazila. Pri kroničnem IKD je prav tako potrebno prekiniti delovanje iritanta in kožo skrbno negovati z negovalnimi mazili. Močnejše vnete predele mažemo s kortikosteroidnimi mazili, dokler se vnetje ne

umiri. Pomembno je, da bolnika poučimo o bolezni, škodljivih dejavnikih in priporočimo, da se jim izogiba ali spremeni okolje, v kolikor je to mogoče (20, 21). Farmacevt lahko bolnika spodbudi k razmisleku, katere snovi oziroma izdelki so odgovorni za nastanek IKD, kar je zlasti pomembno, ko dražeča snov ni očitna (npr. bolnik nima tveganega poklica za nastanek IKD) in mu hkrati s svojim specifičnim znanjem o sestavinah v kozmetičnih izdelkih pri tem lahko pomaga.

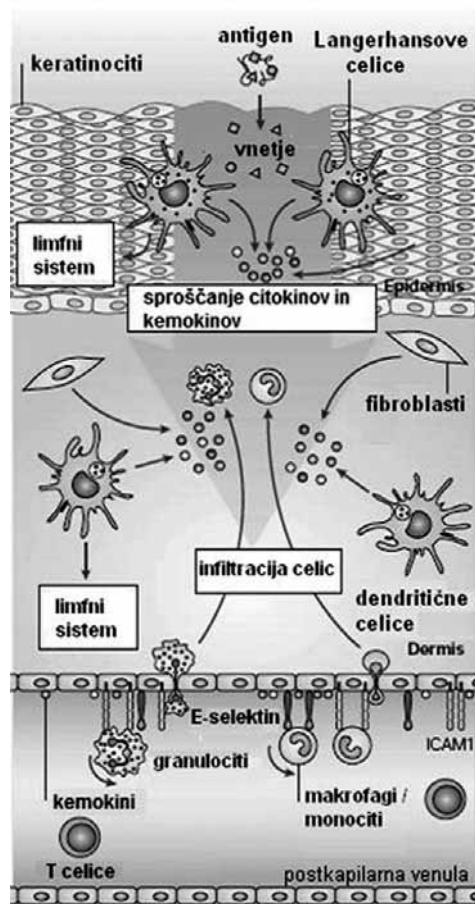
3 Kožni imunski sistem, vpleten v iritativni kontaktni dermatitis

Za razumevanje mehanizma nastanka in razvoja IKD moramo poznati vpletenost celic kože, celic, ki migrirajo na prizadeto območje ter vnetnih in prvotnih mediatorjev. Kožo sestavljajo vrhnjica (epidermis), ki prestavlja zgornjo plast, vmesna usnjica (dermis) in spodaj ležeče podkožje (subcutis). Za imunski odgovor so pomembne predvsem celice vrhnjice, in sicer keratinociti in Langerhansove celice, medtem ko je vloga melanocitov pri tem neznana. V usnjici imajo glavno vlogo limfociti T (brez spominskih limfocitov T), makrofagi in dendritične celice. Celice imunskega sistema v koži, hkrati s potekom imunskega odziva (poglavje 3.1), so predstavljene na sliki 2.

3.1 Celice vrhnjice

Vrhnjico sestavlja večplasten epitelij, v katerem 90% celic predstavljajo keratinociti. Ti so podvrženi procesu diferenciacije, v katerem se proliferativne, nediferencirane celice preobražajo v visoko diferencirane celice, ki niso več sposobne delitve. Glede na stopnjo diferenciacije razdelimo vrhnjico na več plasti, in sicer keratinociti nastajajo v bazalni plasti, dozorevajo v trnasti in zrnatih plasti, v roženi plasti pa poteka zadnja stopnja diferenciacije keratinocitov, to je sprememba v korneocite. Rožena plast s svojo specifično zgradbo predstavlja glavno bariero kože, hkrati pa imajo keratinociti ključno vlogo pri imunskem odgovoru vrhnjice. Sprožijo namreč imunski odziv oziroma imajo ključno vlogo pri začetku ter nadaljnji modulaciji in regulaciji vnetja (11). Vsak vnetni odziv poteka v medsebojnem sodelovanju raznovrstnih in številnih celic, tako je neizogibna povezava keratinocitov z endoteljskimi in imunskimi celicami. Za medsebojno signaliziranje uporabljajo imunske celice stike, ki jih omogočajo receptorske povezave (zlasti preko adhezijskih molekul). Zelo pomembno pa je tudi medcelično signaliziranje preko topnih beljakovinskih signalnih molekul oziroma citokinov. Med slednje uvrščamo interleukine (IL), rastne faktorje in kemokine, ki igrajo pomembno vlogo pri nastanku IKD. Keratinociti so v imunskem odzivu

pomembni predvsem z vidika izdelovanja citokinov IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 ter rastnih faktorjev GM-CSF (granulocitno- makrofagne kolonije spodbujajoči dejavnik), TNF- α (dejavnik tumorske nekroze- α) in TGF- β (transformirajoči rastni dejavnik- β). Pri patoloških stanjih keratinociti izražajo molekule poglobitnega histokompatibilnostnega kompleksa (MHC) razreda II, hkrati je povečano izražanje adhezijskih molekul kot je medcelična adhezijska molekula-1 (ICAM-1). MHC je skupni izraz za veliko skupino genov, ki kodirajo molekule, sodelujoče pri medcelični prepoznavi ter predstavljanju antigenov limfocitom T. Antigen je torej vsaka snov, ki izzove imunski odziv oziroma jih lahko limfociti T prepoznajo pri nespecifičnem imunskem odzivu. Keratinociti sproščajo tudi kemotaktične citokine ter dejavnike, ki vplivajo na sintezo E-selektina in žilnih adhezijskih molekul-1 (VCAM-1) na dermalnih endotelijih celicah, ki sodelujejo pri migraciji limfocitov T iz žil v kožo (23, 24). Biološki odziv keratinocitov po stiku z iritantom je predstavljen na sliki 3.



Slika 2: Celice imunskega sistema v koži in imunski odziv na poškodbo zaščitne plasti kože (22).

Figure 2: Immune system cells and immune mechanisms in the skin following barrier disruption (22).

Langerhansove celice so dendritične celice, ki izvirajo iz kostnega mozga ter obsegajo 2-5% celic vrhnjice. Pomembne so za imunski sistem v koži, ker imajo vlogo pri predstavljanju antigenov limfocitom T. Na svoji površini izražajo MHC molekule razreda I in II. Značilne so tudi CD1a in CD1b molekule, ki so podobne molekulam MHC razreda I. Sproščajo citokine

IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 ter TNF- α . So edine celice, ki izražajo MHC molekule razreda II v fizioloških razmerah, medtem ko v vneti koži MHC molekule razreda II lahko izražajo tudi keratinociti. Langerhansove celice so torej glavne antigen predstavitvene celice (APC) v koži in posledično odgovorne za začetek imunskega odziva v njej, sodelujejo tudi pri razvoju IKD (7). Načeloma iritanti pri IKD zmanjšajo njihovo število v vrhnjici, čeprav moramo ponovno upoštevati razlike med strukturno različnimi iritanti.



Slika 3: Odziv keratinocitov po stiku z iritantom (7).

Figure 3: Keratinocyte response to skin irritants (7).

3.2 Celice usnjice

V usnjici so glavne APC makrofagi in dendritične celice (na svoji površini izražajo MHC molekule razreda II). Predhodno sproščeni mediatorji vnetja v koži kemotaktično privlačijo in povzročijo infiltracijo limfocitov T, predvsem limfocitov T-celic pomagalk, ki izločajo različne citokine IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , vpletene v vnetni proces.

4 Vloga citokinov pri iritativnem kontaktnem dermatitisu

Kot predhodno omenjeno, je v primerjavi s fiziološkim stanjem kože pri IKD opazna pozitivna regulacija izražanja številnih citokinov, ki imajo različno vlogo za njegov nastanek in razvoj. Med njimi zavzemajo IL-1 α , IL-1 β in TNF- α poglobitno mesto, saj lahko samostojno sprožijo vnetno reakcijo (8). Hkrati so udeleženi tudi ostali citokini: IL-2 je najpomembnejši rastni faktor za limfocite T, IL-6 vpliva na procese zorenja keratinocitov, IL-8 je močan kemokin za limfocite, medtem ko IL-10 zavira sintezo citokinov oziroma imunski odziv.

4.1 Interlevkin-1

IL-1 sintetizirajo številne celice, med njimi tudi keratinociti. Nahaja se v dveh aktivnih oblikah: IL-1 α ter IL-1 β . V fizioloških pogojih keratinociti neprenehoma sintetizirajo IL-1 α , ki se zaradi poškodbe celične membrane ob stiku z iritantom sprosti v medcelični prostor. Nasprotno pa se IL-1 β sprošča kot neaktivni prekurzor (31 kDa), ki ga v aktivno obliko (17,5 kDa) cepijo proteaze, ki niso prisotne v mirujočih keratinocitih. Informacijsko ribonukleinsko kislino (mRNA) za slednje zaznamo šele po aktivaciji keratinocitov z iritanti. Natančen mehanizem indukcije še ni poznan.

IL-1 je vključen tako v aktivacijo limfocitov T in tvorbo IL-2 kakor tudi v pozitivno regulacijo receptorjev za IL-2 na aktiviranih limfocitih T, hkrati deluje kemotaktično na limfocite T. Sproščajo ga Langerhansove celice, kjer je udeležen pri njihovi migraciji in predstavitvi antigena. Inducira

keratinocite k avtokrini ali parakrini sintezi IL-1 ter vpliva na sintezo ostalih citokinov: EGF (epidermalni rastni dejavnik), IL-6, IL-8 ter GM-CSF. Stimulira tudi fosfolipazo A_2 , kar vodi v nastanek prostaglandina E_2 , ki je odgovoren za vazodilatacijo. Sproščanje IL-1 torej omogoča razširitev vnetnega procesa ter z regulacijo adhezijskih molekul na keratinocitih, ICAM-1, vpliva na zadrževanje imunskih celic v koži (7).

4.2 Dejavnik tumorske nekroze- α

TNF- α oziroma njegov prekurzor (26 kDa) sintetizirajo številne celice, limfociti T, monociti, Langerhansove celice, fibroblasti in keratinociti; in sicer pred sproščanjem ga metaloproteaze pretvorijo v aktivno obliko (17 kDa), sestavljeno iz treh podenot. TNF- α izkazuje svoje učinke preko vezave na specifične receptorje TNF-R1 in TNF-R2, ki so izraženi na številnih celicah. TNF-R1 je receptor, preko katerega nastopijo učinki na metabolizem, sintezo citokinov in celično smrt ter se nahaja predvsem na keratinocitih. TNF- α uravnava izražanje ICAM-1 na keratinocitih, poveča izražanje gena za MHC molekule tipa II ter vpliva na sproščanje IL-1 α , IL-6, IL-8, zaradi česar vzdržuje vnetni proces v koži. Vpliva na sintezo kolagenaz in prostaglandina E_2 v fibroblastih, kar še dodatno prispeva k vnetju in poškodbi tkiva. Za večino iritantov (DMSO, SDS, formaldehid, fenol) je sicer dokazano, da povzročijo izražanje TNF- α , ponovno pa ne za vse, tako da se moramo zavedati, da različni iritanti vplivajo na imunski sistem na različnih ravneh (7).

5 Mehanizmi, vpleteni v nastanek iritativnega kontaktnega dermatitisa

Zaradi bistvenih razlik v kemijski strukturi spojin z dražečim potencialom je smiselno pričakovati, da so pri draženju kože udeleženi različni mehanizmi (11). Iritanti načeloma delujejo po dveh poteh: povzročijo zmanjšanje barierne funkcije kože ter izkazujejo neposredne učinke na celice v koži; le-te sprožijo sproščanje molekul, udeleženih v vnetnem procesu in infiltraciji imunskih celic.

Večina raziskav je bila usmerjenih predvsem v proučevanje akutnega IKD in alergijskega kontaktnega dermatitisa. Še vedno pa je težko opredeliti, zakaj nastopi kronični IKD, ki lahko traja več let. Nastanek specifičnih kožnih peptidov, ki jih imunski sistem ne prepozna in vodijo v avtoimunsko bolezen ali avtokrina regulacija sinteze TNF- α , ki vzdržuje lokalno vnetno okolje v koži, sta možni razlagi za nastanek kroničnega IKD (7).

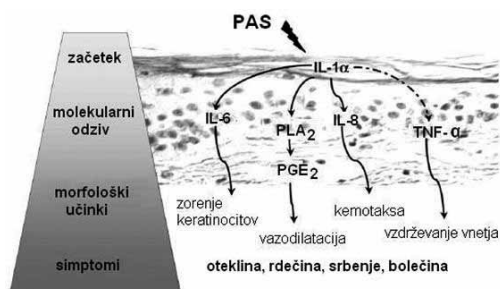
5.1 Poškodba zaščitne plasti kože

V roženi plasti je prostor med korneociti napoljen z lipidi, večinoma ceramidi, holesterolom in prostimi maščobnimi kislinami, ki so v ravnotežju med trdnim kristaliničnim in gelskim ali tekočim kristalnim stanjem in zagotavljajo barierno funkcijo kože. Korneociti so še dodatno obdani z ovojnico prečno premreženih beljakovin, med katerimi je tudi filagrin, ki ima ključno vlogo pri vzdrževanju nepoškodovane zaščitne plasti. Poškodba rožene plasti nastopi zaradi denaturacije beljakovin, povečane hidracije in porušenega razmerja med lipidi. Poškodba rožene plasti je načeloma primarni učinek iritantov, izrazit zlasti pri PAS, nasprotno pa ga pri določenih iritantih ne zaznamo (ditanol). Porušena zgradba lipidnega dvosloja vpliva predvsem na povečano transepidermalno izgubo vode in lažje prodiranje iritantov in drugih

škodljivih snovi globlje v kožo, kjer lahko povzročijo nadaljnje okvare in nekroze keratinocitov. Zaradi poškodbe rožene plasti pride tudi do velikih sprememb v koncentraciji kalcija, ki je odgovoren za homeostazo rožene plasti. Njegova koncentracija je v fizioloških razmerah večja v zgornjih plasteh vrhnjice. Prav akutna poškodba rožene plasti, natančneje povečana hidracija ter sprememba gradienta kalcija, sprožita tudi procese obnavljanja preko sproščanja lipidov iz lamelarnih telesc in njihove ponovne ureditve v intercelularne lamele (1, 11).

5.2 Neposredni učinki na celice

Neposredni učinki iritantov so najbolj raziskani preko delovanja PAS, predvsem SDS. PAS namreč poškodujejo celične membrane, zaradi česar se iz citoplazme sprosti predhodno sintetiziran citokin IL-1 α , ki ima glavno vlogo pri začetku vnetja; sproži namreč izražanje ostalih citokinov, kot sta IL-6 in IL-8 (slika 4).



Slika 4: Iritacija kože, sprožena s površinsko aktivnimi snovmi (izražanje TNF- α je neodvisno od sproščanja IL-1 α ; črtkana črta) (11).

Figure 4: Skin irritation induced by surfactants (the expression of TNF- α is independent of IL-1 α release; dotted line) (11).

Zaradi delovanja iritantov se v koži poveča količina IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , in GM-CSF. Lahko torej sklepamo, da že poškodba sama sproži imunski odziv, ki vodi v razvoj lokalne vnetne reakcije v koži. Iritanti lahko vplivajo na celično membrano kot tako. Že pri koncentracijah, nižjih od citotoksičnih, povzročijo znatne spremembe v fluidnosti membrane in hkrati zaradi nespecifične afinitete do transmembranskih receptorjev nastopijo spremembe v procesih transdukcije, kar sproži oziroma podpira vnetni odgovor. V nasprotju z opisanim mehanizmom iritanti, ki ne poškodujejo celičnih membran, vnetnega procesa ne sprožijo zgolj s sproščanjem IL-1 α , temveč povzročijo temeljite spremembe procesov in funkcij keratinocitov. Keratinociti sicer že v fizioloških pogojih konstantno tvorijo reaktivne kisikove spojine (ROS), medtem ko določeni iritanti raven ROS še povišajo. Pri tem nastopi oksidacija nukleinskih kislin, beljakovin in membranskih lipidov, kar vodi v spremenjeno izražanje genov in citotoksičnost (11). Prav tako je verjetno, da interakcije iritantov z intracelularnimi ali membranskimi beljakovinami stimulirajo keratinocite ne samo neposredno, ampak tudi posredno preko spremembe okolja, npr. pH vrednosti. Površina vrhnjice je pred okužbami namreč zavarovana z nizkim pH, ki ima prav tako pomembno vlogo pri vzdrževanju zaščitne vloge rožene plasti (25).

6 Vrednotenje iritantov

Za izbiro varnih sestavin izdelkov za kožo sta potrebna ustrezna standardizacija in preizkusi. Tradicionalno so potencialne iritante testirali na živalih (Draize test na kuncih), vedno strožjim etičnim zahtevam za uporabo živali v laboratorijske namene pa je leta 2003 sledil sedmi amandma k Direktivi o kozmetičnih izdelkih, ki je stopil v veljavo leta 2009. Z njim so prepovedali preskušanje sestavin ali kombinacije sestavin na živalih kakor tudi prodajo izdelkov, katerih sestavine so bile testirane na živalih. Raziskovanje na tem področju se je posledično usmerilo v razvoj alternativnih metod za vrednotenje iritacije kože (*in vitro* modeli, *in vivo* testiranje na ljudeh) (10).

6.1 Draize test na kuncih

Pri testiranju iritantov nanese 0,5 ml nerazredčene tekočine oziroma 0,5 g trdne snovi (dodatno navlažimo) na obrat predel na kožo hrbta treh živali, nato jo pokrijemo z obližem za 4 ure. Klinične znake draženja spremljamo po 24-ih, 48-ih in 72-ih urah. Kljub splošnemu sprejetju tega testa se je izkazalo, da so rezultati velikokrat lažno pozitivni, kar je posledica večje odzivnosti zaradi različne strukture kože v primerjavi s človeško kožo. Hkrati pa je Draize-ov test postal podvržen številnim kritikam zaradi uporabe živali v biomedicinskih raziskavah (26, 27).

6.2 Epikutani test

Za oceno iritacijskega potenciala spojin so že pred dvajsetimi leti razvili etično sprejemljiv *in vivo* epikutani test (»patch test«), ki se uporablja tudi za oceno iritacije končnih izdelkov ter za opredelitev glavnih značilnosti iritacije kože. 30-im prostovoljcem s posebnimi obliži naneseemo testne snovi na klinično nespremenjeno kožo nadlakti ter jih pustimo delovati v naraščajočem časovnem intervalu, tj. 15 in 30 min, nato 1, 2, 3 in končno 4 ure. Tako se izognemo potencialno zelo hudi reakciji kože. Kot pozitivno kontrolo uporabljamo 20% raztopino SDS (R38) (10). Rezultate vrednotimo po 24-ih, 48-ih in 72-ih urah po odstranitvi testnega vzorca glede na štiristopenjsko lestvico, kjer oznaka 0 pomeni odsotnost

reakcije, medtem ko z oznakami +, ++ in +++ opredelimo vnetno reakcijo glede na jakost in razširjenost rdečine in otekline. Če je stopnja vnetne reakcije primerljiva ali izrazitejša glede na 20% raztopino SDS, lahko spojino opredelimo kot iritabilno. Zavedati pa se moramo, da je vrednotenje testnih rezultatov najzahtevnejši del epikutanega testiranja in je pravilna ocena odvisna izključno od poznavanja celotne dermatološke problematike (14, 28).

V preglednici 2 je podana opredelitev spojin kot NC ali R38 glede na rezultate epikutanega testiranja (podani kot odstotek prostovoljcev, pri katerih se je pojavila vnetna reakcija) v primerjavi s predhodno opredelitvijo, kjer so bili podatki pridobljeni z uporabo Draize testa. S sivo so označene spojine, pri katerih so bili rezultati epikutanega testiranja drugačni; z ozirom na dejstvo, da so bili podatki pridobljeni *in vivo* na človeški koži se nova opredelitev smatra kot verodostojna (14).

6.3 Rekonstruirani celični kožni modeli

V zadnjih 20-ih letih je sledil intenziven razvoj celičnih modelov, vprašljivo pa je ali lahko uporabimo rekonstruirane celične kožne modele za oceno iritacijskega potenciala posameznih spojin in kozmetičnih izdelkov. Osrednjo vlogo pri razvoju *in vitro* modelov za testiranje draženja imajo keratinociti. Celični kožni modeli so sestavljeni iz keratinocitov na naravnih ali umetnih podlagi. Izolirani keratinociti, navadno pridobljeni iz vzorcev kože po plastičnih operacijah, se v postopku priprave popolnoma diferencirajo, pri čemer nastane rekonstruiran človeški epidermis (RHE), ki posnema fiziološke lastnosti vrhnjice, bistvene plasti kože, vpletene v iritacijo. Dokazano je, da RHE dobro posnema tridimenzionalno zgradbo človeške kože, precejšnje podobnost pa izkazuje tudi na področju morfologije, sestave lipidov in biokemičnih označevalcev, tako da je v zadnjem desetletju postal vodilni model za preučevanje draženja. Evropski center za validacijo alternativnih metod (ECVAM) je do danes priznal že tri *in vitro* modele za vrednotenje draženja kože, ki so enakovredna zamenjava za Draize test iritacije kože, in sicer EpiSkin™, EpiDerm™ ter SkinEthic™. Ocena *in vitro* modelov je temeljila na njihovi

Preglednica 2: Rezultati epikutanega testiranja (14).

Table 2: Human patch test results (14).

SPOJINA	TRENTUTNA OPREDELITEV *	REAKCIJA PO 4IH URAH (%)**	REAKCIJA NA 20% SDS (%)**,#	NOVA OPREDELITEV **
Izopropil miristat	NC	3	58	NC
Tween 80	NC	4	30	NC
Destilirana voda	/	0	56	NC
Mlečna kislina	NC	81	60	R38
Benzalkonijev klorid (7,5%)	R38	15	30	R38
Oktanol	R38	18	77	NC
Natrijev hidroksid (0,5%)	R38	61	70	R38
SDS (100%)	R38	70	45	R38
SDS (20%)	R38	67	/	R38
SDS (10%)	NC	47	45	R38

* glede na rezultate Draize testa (Dodatek I EC Direktive o nevarnih snoveh ali podatki dobavitelja)

** rezultati epikutanega testiranja

pozitivna kontrola pri epikutanem testiranju

sposobnosti, da ločijo iritante z oznako R38 od spojin, ki draženja ne povzročajo, ob sočasni zahtevi po ponovljivih in konsistentnih rezultatih. Prevalidacijske raziskave so obsegale tri faze: *faza I*: optimiranje protokola s testiranjem štirih spojin (dve z oznako R38) v enem laboratoriju; *faza II*: prenosljivost protokola s testiranjem šestih spojin (tri z oznako R38) v dveh laboratorijih in *faza III*: začetna ocena ponovljivosti s testiranjem 20-ih spojin, od teh 10 iritantov, v treh laboratorijih. V validacijskih študijah so v *fazi I* testirali 20 spojin (10 z oznako R38) v vodilnem laboratoriju in v *fazi II* 60 spojin (30 z oznako R38) v treh laboratorijih, izbrane spojine so se razlikovale od spojin iz prevalidacijskih raziskav (29, 30).

Omenjeni modeli izkazujejo v primerjavi s človeško kožo večjo stopnjo penetracije in so posledično bolj občutljivi, hkrati je to prednost pri testiranju spojin s šibko izraženimi iritativnimi lastnostmi. Najbolj izrazita pomanjkljivost celičnih modelov v primerjavi s človeško kožo je nezmožnost vrednotenja kliničnih znakov IKD. Tu je namreč pomembna vloga kožnega krvnega obtoka, imunskih celic, živcev, ki pri *in vitro* modelih manjkajo. Ocena draženja je tako podana na podlagi parametrov kot so stopnja viabilnosti, sproščanje citokinov, morfološke spremembe, spremembe v izražanju genov. Najbolj pogost parameter za oceno draženja je spremljanje viabilnosti celic (ti. MTT test), vendar pa je bistveno bolj občutljiv parameter določanje specifičnih citokinov, predvsem IL-1 kot primarnega citokina pri nastanku IKD, pa tudi IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α in ostalih. Iz napisanega je razvidno, da zgolj poglobljeno razumevanje mehanizmov nastanka in razvoja IKD na celični oziroma molekularni ravni omogoča sočasen napredek na področju razvoja in uporabe alternativnih metod ter novih potencialnih biokemičnih označevalcev za oceno draženja (11, 31).

7 Zaključek

Zmotno je mišljenje, da je IKD preprost biološki odziv kože ob stiku s škodljivimi snovmi. Zgolj razumevanje IKD kot kompleksnega procesa, vključno z imunskim odzivom, lahko omogoči ustrezen pristop tako k preprečevanju IKD kakor tudi vrednotenju iritantov z vzporednim razvojem alternativnih metod. Zavedati se moramo, da IKD predstavlja velik zdravstveni problem z resnimi socialnimi vplivi, saj so simptomi lahko zelo moteči za posameznika, tudi z vidika zunanega izgleda ter želja po popolnem videzu. Če poplavi različnih izdelkov na tržišču in njihovi pogosti uporabi prištejemo še potencialno poklicno izpostavljenost, je očitno, da lahko včasih veliko naredimo že sami s kritičnim pristopom pri izbiri izdelkov, ki pridejo v stik z kožo (npr. uporaba izdelkov, ki vsebujejo manj iritabilne snovi kot so biokompatibilne PAS ali njihove kombinacije).

8 Zahvala

Pregledni članek je nastal v okviru raziskovalnega projekta J1-4236 Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije.

9 Literatura

- Fluhr JW, Darlenski R, Angelova-Fischer I, Tsankov N, Basketter D. Skin irritation and sensitization: mechanisms and new approaches for risk assessment; *Skin Pharmacol Physiol* 2008; 21: 124-135.
- Web of science. http://home.izum.si/izum/ft_baze/wos.asp. Dostop: 24-09-2010.
- Chew A-L, Maibach HI. Safety terminology. In: Paye M, Barel AO, Mainbach HI. *Handbook of cosmetic science and technology* 2nd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, New York, London 2006: 889-894.
- Basketter D, Darlenski R, Fluhr JW. Skin irritation and sensitization: mechanisms and new approaches for risk assessment; *Skin Pharmacol Physiol* 2008; 21: 191-202.
- Kopčavar-Guček N. Kontaktni dermatitis in urtikarija v družinski medicini. http://www.drmed.org/strok/ssi/fajdiga_peto_srecanje/fajdiga_12.php. Dostop: 03-08-2010.
- Schliemann S, Breternitz M, Elsner P. Principles and mechanisms of skin irritation. In: Barel AO, Paye M, Mainbach HI. *Handbook of cosmetic science and technology* 3rd ed., Informa Healthcare USA, Inc. 2009: 443-453.
- Lisby S, Baadsgaard O. Mechanisms of irritant contact dermatitis. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoitteir J-P. *Contact Dermatitis* 4th ed., Springer Berlin Heidelberg, 2006: 69-82.
- Corsini E, Galli CL. Cytokines and irritant contact dermatitis. *Toxicol Lett* 1998; 102-103: 277-282.
- White IR, Basketter D. Legislation. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoitteir J-P. *Contact Dermatitis* 4th ed., Springer Berlin Heidelberg, 2006: 869-873.
- Robinson MK, Cohen C, de Brugerolle de Fraissinette A, Ponc M, Whittle E, Fentem JH. Non animal testing strategies for assessment of the skin corrosion and skin irritation potential of ingredients and finished products. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 573-592.
- Weiss T, Basketter DA, Schröder. In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. *Toxicol Vitro* 2004; 18: 231-243.
- Paye M. Mechanism of skin irritation by surfactants and anti-irritants for surfactant-based products In: Barel AO, Paye M, Mainbach HI. *Handbook of cosmetic science and technology* 3rd ed., Informa Healthcare USA, Inc. 2009: 455-469.
- Material safety data sheet. Sodium lauryl sulfate MSDS. http://129.128.185.122/drugbank2/drugs/DB00815/safety_sheets/1084. Dostop: 06-08-2010.
- Basketter DA, Chamberlain M, Griffiths HA, Rowson M, Whittle E, York M. The classification of skin irritants by human patch test. *Food Chem Toxicol* 1997; 35: 845-852.
- Robinson MK, Kruszewski FH, Al-Atrash J, Blazka ME, Gingell R, Heitfeld FA, Mallon D, Snyder NK, Swanson JE, Casterton PL. Comparative assessment of the acute skin irritation potential of detergent formulations using a novel human 4-h patch test method. *Food Chem Toxicol* 2005; 43: 1703-1712.
- Sanchez L, Mitjans M, Infante MR, Vinardell MP. Determination of interleukin-1 α in human NCTC 2544 keratinocyte cells as a predictor of skin irritation from lysine-based surfactants. *Toxicol Lett* 2006; 167: 40-46.
- Warner RR, Boissy YL, Lilly NA, Spears MJ, McKillop K, Marshall JL, Stone KJ. Water disrupts stratum corneum lipid lamellae: damage is similar to surfactants. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 960-966.
- Barel AO. General concepts of skin irritancy and anti-irritant products. In: Paye M, Barel AO, Mainbach HI. *Handbook of cosmetic science and technology* 2nd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, New York, London 2006: 917-932.
- White IR, de Groot AC. Cosmetics and skin care products. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoitteir J-P. *Contact Dermatitis* 4th ed., Springer Berlin Heidelberg, 2006: 493-506.
- Levin CY, Maibach HI. Irritant contact dermatitis: is there an immunologic component? *Int Immunopharm* 2002; 2: 183-189.
- Lunder T. Alergijske in reaktivne kožne bolezni. In: Kansky A. *Kožne in spolne bolezni*. Ljubljana 2002: 137-150.
- Kupper TS, Fuhlbrigge RC. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 211-222.
- Vozelj M. Temelji imunologije. *DZS Ljubljana* 2000: 7-8, 239-259.
- Gordon KB, Chan LS. Inflammation and immunity. In: Freinkel RK, Woodley DT. *The biology of the skin*, The Parthenon Publishing Group Inc., New York, 2001: 239-254.
- Hachem JP, Crumrine D, Fluhr J, Brown BE, Feingold KR, Elias PM. pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and stratum corneum integrity/cohesion. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 345-353.

26. Basketter D, Kimber I. Predictive tests for irritants and allergens and their use in quantitative risk assesment. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoitteir J-P. Contact Dermatitis 4th ed., Springer Berlin Heidelberg, 2006: 179-187.
27. Bashir SJ, Maibach HI. In vivo irritation. In: Paye M, Barel AO, Mainbach HI. Handbook of cosmetic science and technology 2nd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, New York, London 2006: 905-916.
28. Wahlberg JE, Lindberg M. Patch testing. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoitteir J-P. Contact Dermatitis 4th ed., Springer Berlin Heidelberg, 2006: 365-390.
29. Macfarlane M, Jones P, Goebel C, Dufour E, Rowland J, Araki D, Costabel-Farkas M, Hewitt NJ, Hibatallah J, Kirst A, McNamee P, Schnellau F, Scheel J. A tiered approach to use alternatives to animal testing for the safety assesment of cosmetics: skin irritation. Regul Toxicol Pharmacol 2009; 54: 188-196.
30. Botham PA. The validation of in vitro methods for skin irritation. Toxicol Lett 2004; 149: 387-390.
31. Netzlaff F, Lehr CM, Wertz PW, Schaefer UF. The human epidermis models EpiSkin[®], SkinEthic[®] and EpiDerm[®]: An evaluation of morphology and their suitability for testing phototoxicity, corrosivity, and substance transport. Eur J Pharm and Biopharm 2005; 60(2): 167-178.

Revija Zdravstveno varstvo, ki jo izdaja Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije, ima v letu 2011 faktor vpliva 0,452

Igor Švab, Marija Seljak, Saša Zupanič

Revija Zdravstveno varstvo izhaja pod okriljem Inštituta za varovanje zdravja Republike Slovenije od leta 1962 in ima torej že 50-letno tradicijo obveščanja strokovne javnosti s področja javnega zdravja.

Konec junija je izšel JCR 2011 (Science Edition in Social Sciences Edition). Težko smo ga pričakovali, saj je revija Zdravstveno varstvo od leta 2009 vključena v SSCI ter posledično podvržena izračunavanju faktorja vpliva (IF).

Faktor vpliva je sinonim za kakovostno uredniško politiko in visoko znanstveno raven revije. S svojim pomenom in uveljavljenostjo tako faktor vpliva zagotavlja reviji ugled, ta pa seveda reden in zadosten dotok kakovostnih člankov in s tem izbor le najboljših člankov v objavo.

Prvi izračun faktorja vpliva IF (2011) za Zdravstveno varstvo je 0,452.

Upoštevani so bili citati znanstvenih in preglednih znanstvenih člankov v letu 2011, ki so se nanašali na članke v letih 2010 in 2009.

Zdravstveno varstvo je v SSCI uvrščeno v kategorijo PUBLIC, ENVIRONMENTAL & OCCUPATIONAL HEALTH. Skupno je v tej kategoriji 131 revij, Zdravstveno varstvo je na 119 mestu, kar

predstavlja 4. kvartil te skupine. Najvišji IF v tej kategoriji v 2010 je bil 8,609.

V Sloveniji je bilo v letu 2010 18 znanstvenih revij s faktorjem vpliva, dve s področja medicine. Letos se je tej skupini priključila še revija Zdravstveno varstvo.

Čestitamo avtorjem, recenzentom in urednikom revije Zdravstveno varstvo in se jim hkrati zahvaljujemo za njihovo uspešno delo.

Ker pa nas izračun faktorja vpliva čaka vsako leto, se bomo trudili, da to lovoriko ohranjamo tudi v bodoče s kakovostnimi članki, strogo recenzijsko politiko in dobrim uredniškim delom. Citiranje člankov iz Zdravstvenega varstva 2010 in 2011 v letu 2012 v revijah, vključenih v SCI in SSCI, pa je seveda pot k uspehu v JCR 2012.

Revija Zdravstveno varstvo (ang. Slovenian Journal of Public Health – SJPH) je brezplačno v polnem besedilu dostopna na spletnih straneh evropske znanstvene založbe Versita <http://www.versita.com/sjph/>, kjer najdete tudi navodila avtorjem in vse osnovne podatke o reviji.