

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**HELENA ŠUŠAK**

**ISPITIVANJE UČINAKA GOSPINE TRAVE NA PROMJENE  
PARAMETARA KOŽE NAKON OŠTEĆENJA IZAZVANOG  
IZLAGANJEM ULTRALJUBIČASTIM ZRAKAMA**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2018./2019.**

**Mentor:**

**Prof. dr. sc. Darko Modun**

**Split, srpanj 2019.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**HELENA ŠUŠAK**

**ISPITIVANJE UČINAKA GOSPINE TRAVE NA PROMJENE  
PARAMETARA KOŽE NAKON OŠTEĆENJA IZAZVANOG  
IZLAGANJEM ULTRALJUBIČASTIM ZRAKAMA**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:  
2018./2019.**

**Mentor:  
Prof. dr. sc. Darko Modun**

**Split, srpanj 2019.**

## **SADRŽAJ:**

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Koža .....	2
1.1.1. Razvoj kože .....	2
1.1.2. Građa kože.....	3
1.1.3. Uloga kože.....	8
1.2. Ultraljubičasto zračenje .....	14
1.2.1. Općenito o ultraljubičastom zračenju .....	14
1.2.2. Učinci UV zračenja na kožu.....	16
1.3. Gospina trava .....	19
1.3.1 Općenito o gospinoj travi .....	19
1.3.2.Učinci topikalnih pripravaka gospine trave.....	20
1.3.3.Učinci na cijeljenje oštećenja kože.....	22
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA</b> .....	23
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	25
3.1. Organizacija i opis istraživanja .....	26
3.2. Ispitanici.....	26
3.3. Mjerenje parametara kože.....	26
3.4. Intervencija UV zračenjem .....	27
3.5. Terapija .....	27
3.6. Statistička obrada.....	28
<b>4. REZULTATI</b> .....	29
<b>5. RASPRAVA</b> .....	34
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	38
<b>7. POPIS CITIRANE LITERATURE</b> .....	40
<b>8. SAŽETAK</b> .....	47
<b>9. SUMMARY</b> .....	49
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	51

*Zahvaljujem dragom mentoru prof. dr. sc. Darku Modunu na stručnoj pomoći, izdvojenom vremenu i strpljenju tijekom pisanja ovog diplomskog rada.*

*Hvala dragom Dariju Leskuru, mag. pharm. na uloženom trudu i savjetima tijekom pisanja ovog diplomskog rada.*

*Hvala mojoj dragoj obitelji na potpori i razumijevanju tijekom svih ovih godina mog akademskog obrazovanja.*

*Zahvaljujem svim dragim prijateljima i kolegama na ukazanoj pomoći i podršci.*

## **1. UVOD**

## 1.1. Koža

Koža je najveći organ u ljudskom tijelu koji čini 16 % ukupne tjelesne mase. Prekriva cijelu površinu tijela čineći tako primarnu obranu organizma od vanjskih činitelja, a u predjelima funkcionalnih otvora prelazi u sluznicu, odnosno podsluznicu. Površine je oko 1,5 - 1,8 m<sup>2</sup> u muškaraca ili 1,1 m<sup>2</sup> u žena. Normalna se koža morfološki sastoji od triju slojeva: epidermis, dermis i potkožje. Vezivnim tkivom pričvršćena je na podlogu. Složena struktura i fizikalno-kemijske specifičnosti temelj su njenih brojnih funkcija, među kojima su najvažnije: zaštitna, termoregulacijska, resorptivna, neuroendokrina te imunološka uloga. Boja kože ovisi o prokrvljenosti, količini kožnog pigmenta melanina te o prozirnosti kožnih slojeva (1-3).

### 1.1.1. Razvoj kože

Koža je vrlo složen organ i heterogen organ koji se razvija iz dvaju zametnih listića: ektoderma i mezoderma. Ektodermalni dio kože čine: epidermis, adneksi kože, živci i osjetna tjelešca. Mezodermalni dio kože čine: dermis, potkožno masno tkivo, krvne i limfne žile te živci (2).

Razvoj kože embrija započinje nakon gastrulacije, u trećem tjednu gestacije. Multipotentne epitelne stanice na površini ektoderma čine embrionalni bazalni sloj stratificirajućeg epidermisa iz kojeg će se razviti sve strukture budućeg zrelog epidermisa. Oblikovanje embrionalnog bazalnog sloja praćeno je razvojem bazalne membrane koja dijeli epidermis od dermisa. Razvoj epidermisa uključuje i oblikovanje epidermalnih adneksa kao što su dlačni folikuli i žlijezde znojnice. Tijekom razvoja, stanice bazalnog epidermalnog sloja oblikuju pupoljke te invaginiraju u dermis tvoreći tako dlačne folikule, apokrine i ekrine žlijezde znojnice (4). Progenitorske stanice žlijezda lojnica pojavljuju se krajem embriogeneze, ali same žlijezde sazrijevaju tek poslije rođenja (5).

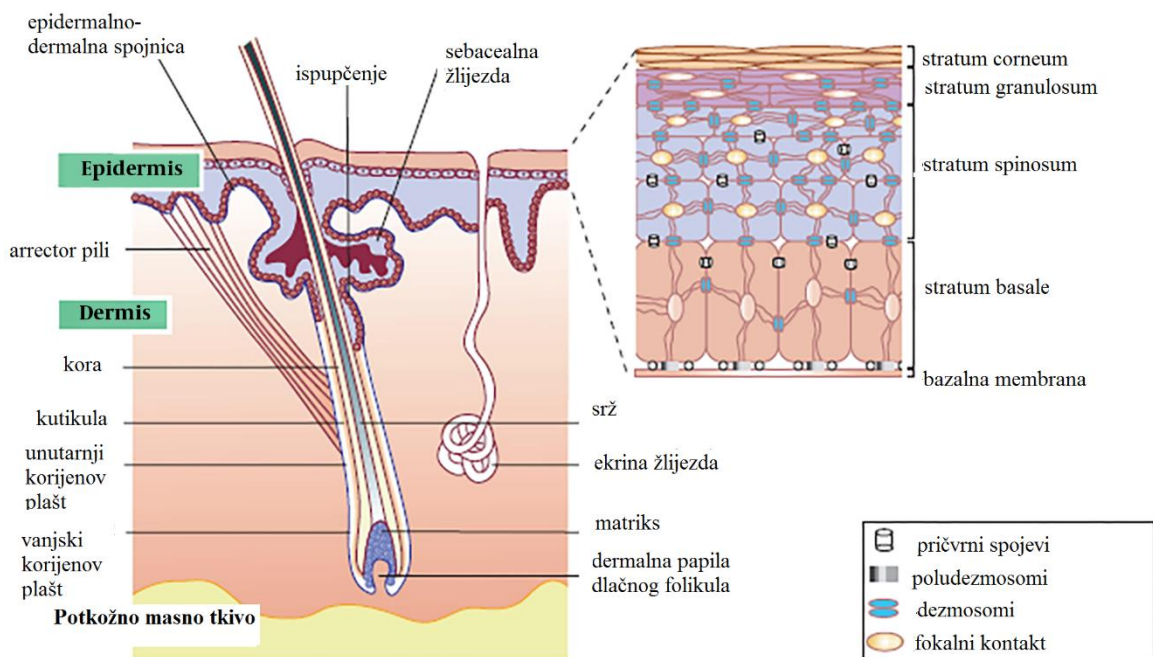
Postoje tri vrste stanica koje migriraju u epidermis tijekom embrionalnog razvoja, a to su: melanociti, Langerhansove i Merkelove stanice. Melanociti su stanice neuralnog grebena koje migriraju u epidermis u dvanaestom tjednu gestacije (6). Langerhansove stanice su antigen prezentirajuće stanice imunološkog sustava koje se pojavljuju u šestom tjednu gestacije (7). Merkelove stanice su stanice povezane sa završetcima osjetnih živčanih vlakana te se javljaju u osamnaestom tjednu gestacije (8).

Dermis i potkožno masno tkivo nastaju iz mezenhimalnih stanica mezoderma. U stadiju embrija dermis je izrazito pun stanica te razlike između dermisa i potkožnog masnog tkiva nema. Krajem trećeg mjeseca gestacije vidljivi su pravilni snopovi vlakana kolagena. U petom mjesecu papilarni i retikularni sloj dermisa se počinju međusobno razlikovati te se počinju stvarati elastična vlakna čime dermis ulazi u završnu razvojnu fazu (6).

### 1.1.2. Građa kože

Koža je građena od triju slojeva (Slika 1.) (6):

- epidermis
- dermis
- potkožje



**Slika 1.** Građa kože i kožnih adneksa. Koža je građena od triju slojeva: epidermisa, dermisa i potkožnog masnog tkiva. Epidermis sadrži četiri sloja: *stratum corneum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* i *stratum basale*. Kožnim adneksima pripadaju apokrine i ekrine znojne žlijezde, lojne žlijezde te dlačni folikuli. Preuzeto i izmijenjeno iz: (6).

### 1.1.2.1. Epidermis

Epidermis je orožnjeli mnogoslojni pločasti epitel debljine 100-150 mikrometara. Sastoji se od četiri sloja: *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum* i *stratum corneum*. U epidermisu se, osim bazalnih stanica i keratinocita, nalaze i druge vrste stanica kao što su melanociti, Langerhansove te Merkelove stanice (2).

*Stratum basale* je temeljni, zametni, sloj koji se sastoji od jednoga reda cilindričnih stanica povezanih poludezmosomima s bazalnom membranom. Kožne matične stanice se nalaze u bazalnom sloju te iz njih nastaju keratinociti. Stanice pokazuju visok nukleocitoplazmatski omjer, mnoštvo staničnih organela kao što su mitohondriji te keratinskih filamenata koji su umetnuti u poludezmosome. Dezmosomi povezuju susjedne i priležeće stanice. Kod zdrave kože, stanice kćeri migriraju iz bazalnog sloja prema površini i započinju proces diferencijacije. Stanična dioba ne odvija se iznad bazalnog sloja. Potrebno je oko dva tjedna za migraciju stanica iz bazalnog sloja u sam vrh granularnog sloja te još dva tjedna kako bi došle do površine rožnatog sloja gdje su konačno raspoređene (9, 10).

*Stratum spinosum*, nazubljeni sloj, leži iznad bazalnog sloja te se sastoji od keratinocita koji nastaju iz bazalnih stanica. Keratinociti proizvode keratin, vlaknasti protein, koji je glavna komponenta rožnatog sloja. Nazubljeni sloj dobiva ime po „bodljama“ ili međustaničnim mostovima, koji se protežu između keratinocita i koji su vidljivi svjetlosnim mikroskopom. Ultrastrukturno oni su sastavljeni od dezmosoma, koji su produžetci keratina unutar keratinocita; funkcionalno drže stanice zajedno (10).

*Stratum granulosum* ili zrnati sloj leži iznad nazubljenog sloja. Proces diferencijacije, u kojem su stanice stječu dodatni keratin i postaju više spljoštene, se nastavlja. Osim toga, one sadrže karakteristična tamna zrnca, lako vidljiva na svjetlosnom mikroskopu, koja se sastoje od keratohijalina. Keratohijalin sadrži dva proteina, od kojih se jedan zove profilagrin, prethodnik filagrina. Kao što mu ime govori, filagrin igra važnu ulogu u agregaciji keratinskih vlakana u rožnom sloju. Drugi protein je zove se involukrin i igra ulogu u formiranju stanične ovojnice stanica u rožnom sloju. Stanice zrnatog sloja također sadrže lamelarna zrnca koja se vizualiziraju elektronskim mikroskopom. Lamelarna zrnca sadrže polisaharide, glikoproteine i lipide koji se istiskuju u međustanični prostor te se smatra da pomažu u formiranju „cementa“ koji drži zajedno stanice rožnatog sloja. Degradativni enzimi također se nalaze unutar zrnatih stanica; oni su odgovorni za eventualno uništenje stanične jezgre i citoplazmatskih organela (10).



*Stratum corneum*, rožnati sloj, sastavljen je od korneocita (terminalno diferenciranih keratinocita koji nemaju jezgru) i izlučenog sadržaja lamelarnih tijela koji mu daju „brick-mortar“ organizaciju (11). Ovakva organizacija stvara tortuozan put kojim supstance moraju ići kako bi dospjele na površinu rožnatog sloja. U ljudskoj koži, rožnati sloj tipično ima od 18 do 21 staničnih slojeva. Pojedinačni korneociti imaju promjer od 20 do 40 μm ( za razliku od 6 do 8 μm kod bazalnih stanica). Mogu se razlikovati po debljini, pakiranju keratinskih vlakana, broju dezmosoma ovisno o mjestu na tijelu na kojem se nalaze i o njihovom položaju unutar samog rožnatog sloja (unutarnji *stratum compactum* prema vanjskom *stratum disjunctum*). Korneodezmosomi osiguravaju koheziju sloja, posebno u *stratum compactum*, gdje se pojavljuju netaknuti. Nasuprot tome, usporena degradacija ovih struktura u *stratum disjunctum* omogućuje normalan proces deskvamacije korneocita (9).

Melanociti su dendritične, pigment producirajuće, stanice koje se nalaze u bazalnom sloju stanica. One štite kožu od ultraljubičastog zračenja. Epidermalno-melaninska jedinica se sastoji od jednog melanocita i 36 okolnih keratinocita. Melanocitni dendriti se šire u nazubljeni sloj i služe kao provodnici kroz koje se pigmentna zrnca prenose u susjedne keratinocite (10). Zrnca se nazivaju melanosomi, a unutarnji pigment je melanin, koji je sintetiziran iz tirozina uz pomoć enzima tirozinaze. Postoje dvije vrste melanina: eumelanin i feomelanin (12). Melanosomi su prvenstveno smješteni iznad jezgre radi zaštite DNA. Ljudi svih rasa imaju sličan broj melanocita. Razlika u pigmentaciji kože ovisi o broju i veličini melanosoma i njihovoj rasprostranjenosti u koži. U tamno pigmentiranoj koži, melanosomi su veći i brojniji su u usporedbi s melanosomima u slabije pigmentiranoj koži. Sunčana svjetlost potiče melanocite na povećanje proizvodnje pigmenta i raspršenje njihovih melanosoma šire (10).

Langerhansove stanice su dendritične stanice u epidermisu koji imaju imunološku funkciju. Potječu od stanica koštane srži i čine oko 5% stanica unutar epidermisa. Na svakih 53 susjednih keratinocita se nalazi jedna Langerhansova stanica. Elektronskim mikroskopom vidljiva su karakteristična zrnca izgleda „teniskog reketa“. Langerhansove stanice identične su tkivnim makrofagima i predstavljaju antigene limfocitima, s kojima međusobno djeluju preko specifičnih površinskih receptora. Kao takvi, Langerhansove stanice su važne komponente imunološke barijere kože (13).

Merkelove stanice su kožni mehanoreceptori koji se nalaze u bazalnom sloju. Najbronije su na području dlanova i stopala te su povezane dezmosomima s keratinocitima (14).

Epidermodermalna granica je područje između epidermisa i dermisa kože koje elektronskomikroskopski odgovara bazalnoj membrani. Sastoji se od svijetlog dijela (*lamina lucida*) koji sadržava citokeratinski poludezmosomski kompleks i tamnog dijela (*lamina densa*)

kojeg čine kolagen tipa IV, nidogen i laminini. Bazalna membrana poludezmosomima je vezana uz bazalni sloj epidermisa, a ukotvljenim vlaknima (engl. *anchoring fibrils*) vezana je uz dermis (2).

### 1.1.2.2. Dermis

Dermis, sloj vezivnog tkiva koji uključuje kolagen i elastična vlakna, vrlo je vaskulariziran i ima dobru mrežu limfnih žila. Sadrži znojne i lojne žlijezde, kao i folikule dlake, i pruža dobru mehaničku, kompaktnu i elastičnu podlogu. Dermis sadrži brojne stanice, uključujući fibroblaste i makrofage. Fibroblasti su odgovorni za sintezu i obnovu izvanstaničnog matriksa, dok makrofagi doprinose eliminaciji stranih tvari i dijelova tkiva oštećenih različitim uzrocima (15). Debljine je od 1 do 4 mm što ga čini mnogo debljim od epidermisa. Dermalni matriks sastoji se prvenstveno od kolagenskih vlakana (glavna komponenta), elastičnih vlakana i temeljne tvari (sada se naziva ektrafibrilarni matriks), koje sintetiziraju dermalni fibroblasti. Kolagen čini 70% suhe težine kože. Kolagen i elastična vlakna su vlaknasti proteini koji tvore jak, ali ujednačen skeletni matriks. U gornjem dijelu dermisa (papilarni dermis), kolagena vlakna su fina i labavo raspoređena. U ostatku dermisa (retikularna dermis), vlakna su gusta i gusto pakirana. Elastična vlakna nalaze se prvenstveno u retikularnom dermisu, gdje su tanja i labavije raspoređena nego kolagenska vlakna. Ektrafibrilarni matriks ispunjava prostor između vlakana. To je nevlaknasti materijal sastavljen od nekoliko različitih molekula mukopolisaharida, koje se zajednički nazivaju proteoglikani ili glikozaminoglikani. Ektrafibrilarni matriks daje dermisu više tekuće kvalitete, što olakšava kretanje tekućina, molekula i upalnih stanica (10).

Kožnim adneksima pripadaju apokrine i ekrine znojne žlijezde, lojne žlijezde, dlačni folikuli i nokti. Ekrine žlijezde znojnice pomažu u reguliranju tjelesne temperature izlučivanjem znoja na površinu kože, odakle dolazi do procesa hlađenja isparavanjem. Apokrine žlijezde odgovorne su za tjelesni miris koji nastaje prilikom reakcije površinskih bakterija sa žljezdanim sekretom. Najviše ih nalazimo u pazušnom i anogenitalnom području. Ljudska lojna žlijezda je multiacinarno, sekrecijsko tkivo prisutno u svim dijelovima kože, osim na dlanovima i tabanima (16). Žlijezde lojnice dio su pilosebacealne jedinice te ih nalazimo gdje god ima dlačnih folikula. U koži, lojne žlijezde su najizraženije na vlasištu i na licu, a umjereno su istaknute na gornjem trupu. Veličina i sekretorna aktivnost ovih žlijezda su pod kontrolom androgena. Folikuli dlaka su raspoređeni po cijeloj površini tijela, osim na dlanovima i tabanima. Folikul dlake može se promatrati kao specijalizirana invaginacija epidermisa, s populacijom stanica na

dnu (dlačni pupoljak) koja se replicira još aktivnije od normalnih epidermalnih bazalnih stanica. Ove stanice tvore matriks kose. Kao i kod bazalnih stanica u epidermisu, matrične stanice se prvo dijele, a zatim diferenciraju, te naposljetku formiraju keratinusnu dlaku. Melanociti u matriksu doprinose pigmentu, čija količina određuje boju kose. Kako se stanice matriksa dijele, kosa se gura prema van i izlazi kroz epidermis brzinom od oko 1 cm mjesečno (10).

### **1.1.2.3. Potkožje**

Sloj potkožnog masnog tkiva leži između dermisa i donje fascije. Pomaže u izolaciji tijela od hladnoće, štiti duboka tkiva od tupih trauma i služi kao rezervni izvor energije za tijelo. Biološki aktivne masne stanice igraju ulogu u razmjeni hormona. Unutar sloja potkožnog masnog tkiva agregati masnih stanica (lipociti) odvojeni su vlaknastim septama kojima prolaze krvne žile i živci (10).

### 1.1.3. Uloga kože

Najvažnije uloge kože su:

- zaštitna uloga
- termoregulacijska
- neuroendokrina
- imunološka

#### 1.1.3.1. Zaštitna uloga kože

Kompleksna struktura ljudske kože i njezine fizikalno-kemijske karakteristike čine ju djelotvornom obrambenom linijom protiv egzogenih čimbenika i važnom u održavanju homeostaze ljudskog tijela. Egzogeni čimbenici mogu biti kemijskog, fizikalnog ili biološkog tipa oštećenja (17).

Ulogu primarne zaštite ima epidermalna barijera, u kojoj rožnati sloj epidermisa ima posebno važnu funkciju. Stanje epidermalne barijere ovisi o individualnim i okolišnim čimbenicima. Najvažniji biofizički parametri koji karakteriziraju status ove barijere su izlučivanje sebuma, pH kože, vlažnost kože i transepidermalni gubitak vode (17).

Površina rožnatog sloja prekrivena je lipidnim filmom, koji igra vrlo važnu ulogu u funkcioniranju epidermalne barijere. Dolazi iz dva izvora: sebuma koji izlučuju žlijezde lojnice, koji čine najveći dio lipidnog omotača, i epidermalnih lipida, koji čine dio rožnatog sloja epidermisa. Debljina lipidnog omotača iznosi od 0,5  $\mu\text{m}$  do 5  $\mu\text{m}$ , ovisno o broju lojnih žlijezda u danom području (18, 19). Sebum je ljepljiva tekućina i mješavina nepolarnih lipida. Sastoji se od triglicerida, slobodnih masnih kiselina, estera voska, skvalena, estera kolesterola i kolesterola. Proizvodnja sebuma je vrlo dinamičan proces, uvjetovan individualnim karakteristikama i čimbenicima okoliša (16, 20). Sebum sudjeluje u stvaranju trodimenzionalne strukture epidermalnih lipida, što pomaže očuvanju njezine cjelovitosti (20, 21). Oblikuje zaštitni sloj protiv umnožavanja patogenih mikroorganizama koji ima proupalna i protuupalna svojstva (22). Sebum čini vrstu izolacije od prekomjerne vlažnosti i varijacija temperature okoline (16). Štoviše, pomaže u održavanju sposobnosti vezanja vode epidermisa (22, 23). Pravilna proizvodnja sebuma korelira s visokom razinom vlažnosti rožnatog sloja (16). Zahvaljujući svojim fizikalno-kemijskim svojstvima utječe na selektivno propuštanje spojeva

nanesenih na kožu (18). Štoviše, ima antioksidativna svojstva i štiti kožu od ultraljubičastog B zračenja (24). Lipidi rožnatog sloja igraju vrlo važnu ulogu u regulaciji apsorpcije različitih spojeva s površine kože (18). Površina zdrave kože može biti karakterizirana kiselim pH, oscilirajući između 4.0 i 6.0. Niski pH površine kože i razlika između pH površine kože i pH dubljih slojeva rožnatog sloja epidermisa kontroliraju fiziološku i potencijalno patogenu floru. Pravilan pH također sudjeluje u održavanju ispravne hidratacije epidermisa (25). Kožni pH igra jednu od najvažnijih uloga u pravilnoj organizaciji lipida matriksa, regulirajući njihovu površinsku strukturu i stabilnost (26). Integritet epidermalne barijere štiti kožu od prekomjernog gubitka vode i štiti održavanje pravilne hidratacije epidermisa. Voda se akumulira zahvaljujući rožnatom sloju epidermisa, a količina vode u tom sloju definira se kao hidratacija kože (27). Na ispravnu razinu vlage utječu čimbenici kao što je količina vode koja se dobavlja iz donjih slojeva epidermisa, dermisa i lojnih žlijezda, kao i količina vode koja se gubi isparavanjem i sposobnost rožnatog sloja da akumulira vodu. Na zadržavanje vode u tom sloju utječe i prisutnost lipida ekstracelularnog matriksa i proteinskog omotača stanica. Najpovršniji dio rožnatog sloja je najmanje hidratiziran i pod velikim utjecajem vanjskih čimbenika na sadržaj vode. Najdublji dio epidermisa sadrži više vode i stoga je utjecaj vanjskog okoliša beznačajan. Srednji prostor je zauzvrat zona s najvećim mogućnostima reguliranja akumulacije vode. Karakterizira ga visoka koncentracija prirodnog hidratantnog faktora koja se nalazi unutar korneocita (17). Prirodni hidratantni faktor odgovoran je za održavanje pravilne hidratacije epidermisa i plastičnosti kože. Gubitak vode iz kože rezultat je izlučivanja znoja i transepidermalne pasivne difuzije. Gubitak vode kroz epidermis opisuje se pomoću TEWL (engl. *transepidermal water loss*) vrijednosti i utječe na razinu vlage epidermisa (28, 29). Transepidermalni gubitak vode je parametar koji odražava integritet vodenog sloja epidermisa i vrlo je osjetljiv pokazatelj oštećenja barijere epidermisa (23, 26, 30, 31). Transepidermalni gubitak vode je gradijent tlaka pare izmjeren u dvije točke koje leže okomito na površinu kože unutar otvorene komore i predstavlja srednju vrijednost prijenosa vode iz rožnatog sloja. U stabilnim uvjetima okoline, TEWL oscilira oko 4–10 g / h / m<sup>2</sup>, ovisno o površini kože, ali se vrijednost može povećati čak i do 30 puta kada je epidermis oštećen (3). Vrijednost TEWL se mijenja čak i pod utjecajem čimbenika kao što su temperatura kože, protok krvi kroz žile kože, tempo regeneracije epidermisa, debljina sloja roževine, sadržaj lipida u rožnatom sloju, broj i aktivnost žlijezda znojnice na danom području kože, temperatura okoline i vlažnost i mnogi drugi (25).

Osim stvaranja vrlo djelotvorne fizičke barijere, keratinociti također akumuliraju melaninske pigmente kako sazrijevaju, a melanin snažno blokira UV prodiranje u kožu. U izobilju u okruženju, UV doprinosi raznim bolestima kože uključujući upale, degenerativno starenje i rak. Većina melanina u koži nalazi se u keratinocitima gdje se akumulira kako bi funkcionirala kao „prirodna krema za sunčanje“ koja štiti kožu od UV fotona. Melanin je veliki bioagregat sastavljen od podjedinica različitih pigmentnih vrsta koje nastaju oksidacijom i ciklizacijom aminokiseline tirozina (32-34). Melanin postoji u dvije glavne kemijske forme: eumelanin, tamni pigment izražen u koži jako pigmentiranih jedinki i feomelanin, svijetlo obojeni sulfatni pigment nastao ugradnjom cisteina u prekursore melanina (35). Eumelanin je mnogo učinkovitiji u blokiranju UV fotona nego feomelanin, tako da što je više eumelanina u koži, to je epidermis manje propustan za UV zračenje (36). Osim što blokira UV prodiranje u kožu, melanin može imati i druge važne fiziološke učinke, uključujući regulatorne utjecaje na epidermalnu homeostazu, čišćenje slobodnih radikala radi zaštite od oksidativnih ozljeda, a možda i antimikrobnu aktivnost (33).

### **1.1.3.2. Termoregulacijska uloga**

Fiziološka termoregulacija kod ljudi obuhvaća promjene u rasipanju topline (kožna vazodilatacija i znojenje) i generiranje topline (drhtanje) kao odgovor na različite unutarnje i vanjske toplinske podražaje (37). Tijelo može preživjeti promjene u temperaturi u rasponu od -52 ° C do +49 ° C. Održavanje stalne tjelesne temperature (37 ° C) važna je funkcija kože i ova regulacija je neophodna za normalno funkcioniranje staničnih enzima u cijelom tijelu. Hipotalamus, koji sadrži centar za regulaciju temperature, može organizirati brojne promjene unutar kože kao odgovor na temperaturne promjene. Arterije i vene u potkožnom sloju odmah ispod dermisa povezane su s malim arteriolama i kapilarama, koje dovode do dermisa. Protok krvi može varirati dilatacijom i suženjem ovih kožnih krvnih žila. Protok krvi u kožu može varirati od oko 250 ml / min do 3000 ml / min kao odgovor na potrebu za gubitkom ili očuvanjem topline. Kada se temperatura tijela podigne, krvne žile u dermisu se šire i koža postaje topla na dodir, ružičaste ili crvene boje. Krv s njom prenosi toplinu na površinu kože. Toplina se gubi iz tijela na četiri načina: konvekcija (toplina se gubi u zračnim strujama); provođenje (toplina se gubi na hladne čvrste predmete koji su u izravnom dodiru s kožom); zračenje (toplina iz toplog tijela se gubi u hladnijem okolnom zraku); isparavanje (toplina se gubi kako tekućina postaje plin, na primjer, isparavanjem znoja) (38, 39).

Ekrine žlijezde znojnice pomažu u smanjenju tjelesne topline. Postoji oko 2-5 milijuna tih žlijezda i njihova distribucija varira u različitim područjima tijela. Na dlanovima i tabanima stopala ima 400 / cm<sup>2</sup> i samo 70 / cm<sup>2</sup> na leđima. Ove žlijezde imaju vlastiti živčani sustav i opskrbu krvlju i proizvode znoj kad temperatura kože naraste iznad 35 ° C (39).

Znoj se sastoji od 99 posto vode, dok preostali posto čine natrij, urea, mliječna kiselina i kalij. U prosjeku, dnevno nastane oko 500 ml znoja, bilo da je tijelo vruće ili ne. U vrlo vrućim klimatskim uvjetima može narasti i do 10 i više litara dnevno. Začinjena hrana i tjelovježba također povećavaju gubitak vode kroz znoj. Vodeni znoj kaplje s kože, upija se u odjeću ili isparava s izloženih površina kože. Problemi nastaju ako je zrak vrlo vlažan, jer znoj ne može ispariti s površine kože, smanjujući gubitak topline (39).

U hladnom vremenu smanjuje se dotok krvi u kožu, kao i proizvodnja znoja. To čuva toplinu u dubljim organima, koji su također izolirani slojevima potkožnog tkiva i masti. Drhtanje se događa kada tijelo postane hladno, ovo nevoljno djelovanje mišića u cijelom tijelu je metabolički proces koji proizvodi toplinu. Još jedna metoda koja se koristi u koži za očuvanje topline je mehanizam koji podiže tjelesnu dlaku. Sićušni mišići *arrectori pili*, oko dlačnih folikula, stišću se i povlače dlaku okomito (39).

### **1.1.3.3. Neuroendokrina uloga**

Znatni dokazi pokazali su da kožni periferni živčani sustav (PNS) igra ključnu ulogu u homeostazi kože i bolesti. Prvo, inervirana koža je ključna barijera koja štiti tijelo od opasnosti od „vanjskog okruženja“. Kožni živci također reagiraju na podražaje iz cirkulacije i na emocije (“unutarnji čimbenici okidanja”). Štoviše, središnji živčani sustav (CNS) je izravno (preko eferentnih živaca ili posrednika iz CNS-a) ili neizravno (preko nadbubrežnih žlijezda ili imunih stanica) povezan s funkcijom kože. Senzorni i autonomni (simpatički) živci utječu na različite fiziološke (embriogenezu, vazokontrakciju, vazodilataciju, tjelesnu temperaturu, funkciju barijere, sekreciju, rast, diferencijaciju, prehranu stanica, rast živaca) i patofiziološke (upala, imunološka obrana, apoptoza, proliferacija, zacjeljivanje rana) funkcije unutar kože. U nestimuliranim živcima, neuromedijatori se jedva mogu otkriti unutar tkiva kože. Nakon izravne stimulacije fizičkim podražajima (termalnim, ultraljubičastim zračenjem, mehaničkim, električnim), kemijskim ili indirektnim stimulusima kao što su alergeni, hapteni, mikrobiološki agensi, trauma ili upala, značajno povećanje regulatornih neuropeptida, neurotrofina,

neurotransmitera ili produkata kisika (npr. dušikov oksid) može se detektirati *in vitro* i *in vivo*. Tako medijatori izvedeni iz senzornih ili autonomnih živaca mogu igrati važnu regulatornu ulogu u koži pod mnogim fiziološkim i patofiziološkim stanjima. Međutim, pored periferije, postoji i suptilna kompleksna komunikacijska mreža između leđne moždine, CNS-a i imunoendokrinog sustava (40).

Ljudska koža i njezine stanice su ciljna tkiva brojnih hormona kao i njihovi proizvođači. Primjerice, cirkulirajući androgeni dehidroepiandrosteron (DHEA) i androstendion pretvaraju se u koži u testosteron i dalje u  $5\alpha$ -dihidrotestosteron ( $5\alpha$ -DHT). Idući važan primjer je i vitamin D, koji se također proizvodi u koži. Vitamin D<sub>3</sub> (kolekalciferol) se sintetizira iz 7-dehidrokolesterola, derivata kolesterola, koji se zatim fotolizira ultraljubičastim zrakama. Produkt je previtamin D<sub>3</sub> koji zatim spontano izomerizira u vitamin D<sub>3</sub>. Nakon dvije hidroksilacije, prva u jetri i druga u bubrezima, nastaje najpotentniji metabolit  $1\alpha,25$ -dihidroksivitamin D<sub>3</sub> (kalcitriol) koji je odgovaran za najvažnije učinke vitamina D kao što su metabolizam kalcija i fosfata te mineralizacija kostiju (41). Koža proizvodi i peptid povezan s paratiroidnim hormonom, čija se uloga još istražuje, kao i kortikosteroide koji potiču rast dlake, proliferaciju sebocita i atrofiju kože. Mjesto je i sinteze retinoida, koji reguliraju proliferaciju i diferencijaciju epitelnih stanica kože te inhibiraju proliferaciju i lipogenezu u sebocitima, kao i eikosanoida, važnih proupalnih citokina (42).

#### **1.1.3.4. Imunološka uloga kože**

Koža, kao primarno sučelje između tijela i okoliša, osigurava prvu liniju obrane od mikrobnih patogena i fizičkih i kemijskih povreda. Imunološki nadzor tako velikog i izloženog organa predstavlja jedinstvene izazove za imunološke stražare i efektorske stanice. Ako je imunološki odgovor neadekvatan, može doći do prevelike infekcije ili tumora, ali ako je imunološki odgovor prekomjerman, može se razviti kronična upala i autoimunost. Zbog toga domaćin koristi i aktivne obrambene mehanizme i mehanizme tolerancije kako bi postigao imunološku homeostazu, osiguravajući da se imunološki odgovor u koži ispravno prilagodi različitim izazovima (43).

Keratinociti mogu otkriti patogene i posredovati imuni odgovor na razlikovanje između bezopasnih komenzalnih organizama i štetnih patogena. Proizvodnja antimikrobnih peptida (AMPs) je evolucijski konzervirani obrambeni mehanizam eukariotskih stanica protiv



patogena. One se proizvode na oštećenim površinama epitela, gdje sprečavaju mikrobiološku invaziju domaćina izravnim ubijanjem patogena, regrutiranjem imunih stanica domaćina i modulacijom proizvodnje citokina (44). Osim antimikrobnih peptida, keratinociti proizvode brojne citokine (IL-1, IL-6, IL-10, IL-18), tumor nekrotizirajući čimbenik (TNF) te različite kemokine (45). Imaju i važnu ulogu kao antigen prezentirajuće stanice s potencijalom antigen-specifične tolerancije, kao i aktivacije (46).

Kožne dendritičke stanice mogu se klasificirati prema njihovoj lokalizaciji u različitim anatomskim dijelovima kože: Langerhansove stanice su glavne dendritičke stanice u epidermisu, gdje se konstitutivno nalaze u suprabazalnim slojevima i redovito su raspoređene među keratinocitima, dok dermalne dendritičke žive u dermisu odmah ispod dermalno-epidermalnog spoja i raspršene su kroz cijeli dermalni odjeljak. Najvažnije dermalne dendritičke stanice su: makrofagi, plazmocitoidne dendritičke i dermalne dendritičke stanice. Dermalne dendritičke stanice aktiviraju i promiču klonsku ekspanziju CD4 + ili CD8 + T stanica memorije na koži (45).

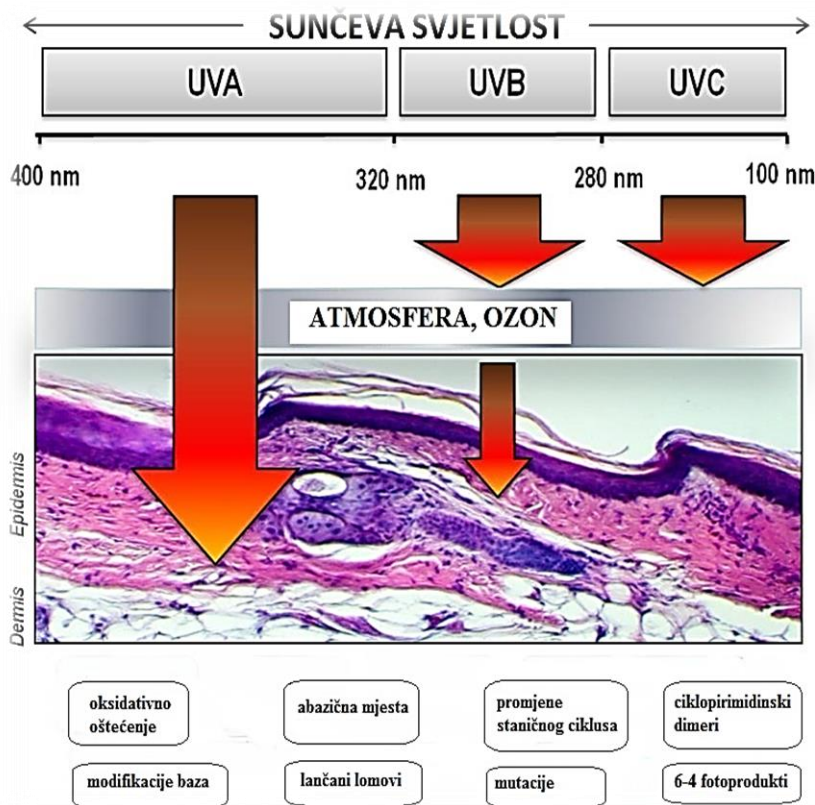
Epidermis sadrži fenotipski heterogenu populaciju T stanica, od kojih su većina CD8 + T stanice pamćenja. Epidermalne T stanice se uglavnom distribuiraju u bazalnom i suprabazalnom sloju keratinocita, često u neposrednoj blizini Langerhansovih stanica. Fibroblasti mogu proizvesti TNF i IL-6, a T stanice prirodne ubojice mogu proizvesti TNF i  $IFN\gamma$ , čime se doprinosi lokalnom upalnom odgovoru. Proupalni citokini iz T stanica i kemokini mogu dalje poticati epitelne i mezenhimalne stanice, uključujući keratinocite i fibroblaste, čime pojačavaju upalnu reakciju (47).

## 1.2. Ultraljubičasto zračenje

### 1.2.1. Općenito o ultraljubičastom zračenju

Sunce, smješteno u svemiru 149 milijuna kilometara od Zemlje, svojom energijom omogućuje opstanak života na Zemlji. Fotokemijska energija akumulirana u molekulama omogućuje nastanak metaboličkih i bioloških procesa u živim organizmima. Od ukupnog Sunčevog zračenja na vidljivi dio spektra (400-800 nm) otpada 50%, na infracrveni dio spektra (800-2500 nm) 40%, a samo 10% otpada na ultraljubičasto (UV) zračenje (100-400 nm). UV zračenje je klasificirano kao "potpuni kancerogen" jer je i mutagen i nespecifično sredstvo koje oštećuje te ima svojstva i inicijatora tumora i promotora tumora. Zbog značajnog prisustva u okolišu, UV je najvažniji promjenjivi čimbenik rizika za rak kože i mnoge druge poremećaje kože na koje utječe okoliš. Međutim, UV štiti ljudsko zdravlje posredovanjem prirodne sinteze vitamina D i endorfina u koži, stoga UV ima složene i mješovite učinke na ljudsko zdravlje. Usprkos tome, prekomjerna izloženost UV zračenju donosi ozbiljne zdravstvene rizike, uključujući atrofiju, pigmentne promjene, nabiranje i malignost. Temeljem fizikalno-kemijskih osobitosti, UV zračenje možemo podijeliti u tri skupine: UVC (100-280 nm), UVB (280-320 nm) i UVA (320-400 nm) (Slika 2.) (2).

UVC zračenje, najkraće valne duljine i najviše energije, ne dopire do Zemljine površine, već se zrake apsorbiraju u ozonskom omotaču Zemlje. UVC zračenje se može proizvoditi pomoću ksenonskih i živinih svjetiljaka, a primjenjuju se u medicini zbog svojih baktericidnih svojstava za sterilizaciju zraka. Na koži može uzrokovati nastanak eritema koji je vidljiv šest sati nakon izlaganja kože UVC zrakama. Eritem slijedi blaga pigmentacija kože. UVC zrake mogu prouzročiti iritaciju konjunktiva i rožnice, pa se prilikom uporabe UVC svjetiljaka moraju nositi zaštitne naočale. Prozorsko staklo zaustavlja UVC zrake. UVB zračenje dopire do površine Zemlje. Može se proizvesti pomoću živinih svjetiljaka, a primjenjuje se u dijagnostičke i terapijske svrhe. Na koži uzrokuje eritem, i to nakon 12 do 24 sata nakon što je koža bila izložena, a nakon 48 do 72 sata počinje tamnjeti. Uzrokuje iritaciju konjunktive oka. UVB zrake ne prolaze prozorsko staklo, ali prolaze kvarcno staklo i vodu. UVA zračenje, najdulje valne duljine i najniže energije, također prodire do Zemljine površine. U malim dozama ne uzrokuje eritem kao ni pigmentaciju. UVA svjetlo se primjenjuje u obliku fotokemoterapije, tzv. PUVA ( psoralen i UVA) terapije. Ne iritira konjunktive, ali uz primjenu fotosenzibilizatora može uzrokovati nadražaj (1, 2).



**Slika 2.** Elektromagnetski spektar vidljivog i UV zračenja te biološki učinci na kožu. Sunčevo UV zračenje može se podijeliti na UVA, UVB i UVC komponente, međutim zbog atmosferskog ozona koji apsorbira UVC, sunčeva svjetlost je pretežno UVA (90% - 95%) i UVB (5% - 10%). UV prodire u kožu ovisno o valnim duljinama. Dulja valna duljina UVA prodire duboko u dermis i doseže do dermisa. Nasuprot tome, UVB se gotovo potpuno apsorbira u epidermisu, s relativno malim prodorom u dermis. UVA je učinkovit u stvaranju reaktivnih vrsta kisika koje mogu oštetiti DNA posrednim reakcijama fotosenzibilizacije. UVB se izravno apsorbira u DNA te uzrokuje molekularne preraspodjele koje tvore specifične fotoproizvode kao što su ciklobutanski dimeri i 6-4 fotoproizvodi. Mutacije i rak mogu biti posljedica mnogih od tih modifikacija DNA. Preuzeto i izmijenjeno iz (1).

## **1.2.2. Učinci UV zračenja na kožu**

UV ima mnogo učinaka na fiziologiju kože, s nekim posljedicama koje se događaju akutno i drugima na odgođeni način (48).

### **1.2.2.1. Akutni učinci**

Jedan od najočitijih akutnih učinaka UV na koži je indukcija upale i pojava eritema. UVB inducira kaskadu citokina, vazoaktivnih i neuroaktivnih medijatora u koži koji zajedno rezultiraju upalnim odgovorom i uzrokuju „opekline od sunca“ (48). Ako doza UV prelazi prag odgovora na oštećenje, keratinociti aktiviraju apoptotske putove i umiru. Takvi apoptotički keratinociti mogu se identificirati njihovim piknotičkim jezgrama i poznati su kao „stanice sunčanih opekline“ (49). Histološke promjene nakon UV zračenja uključuju zadebljanje rožnatog sloja, epidermisa i dermisa, kao i međustanično i perivaskularno oticanje (edem) u dermisu i perivaskularnu infiltraciju. Uzrokujući ozljedu stanica, UV inducira putove odgovora na oštećenja u keratinocitima. Oštećenja signala kao što je aktivacija p53 značajno mijenjaju fiziologiju keratinocita, posredujući pri zaustavljanju staničnog ciklusa, aktivirajući popravak DNA i potičući apoptozu ako je oštećenje dovoljno veliko. Međutim, nekoliko sati nakon izlaganja UV zračenju, i signali odgovora na oštećenje se smanjuju, epidermalni keratinociti se snažno razmnožavaju, posredovani različitim faktorima epidermalnog rasta. Povećana dioba stanica keratinocita nakon izlaganja UV zračenju dovodi do nakupljanja epidermalnih keratinocita koji povećavaju debljinu epidermisa. Epidermalna hiperplazija bolje štiti kožu od UV penetracije (50). U koži pod utjecajem UV zračenja vitamin D3 (kolekalciferol) se sintetizira iz 7-dehidrokolesterola, derivata kolesterola (41).

U kombinaciji s epidermalnom hiperkeratozom dolazi do pojačane pigmentacije kože, odnosno tamnjenja boje kože. UV zračenje povećava proizvodnju i epidermalnu akumulaciju melaninskog pigmenta u koži. Ovaj važan fiziološki odgovor štiti kožu od naknadnog UV oštećenja, a defekti na tom putu povezani su s osjetljivošću na rak. UV-posredovano tamnjenje kože je zapravo dvofazno, s početnim tamnjenjem kože koje nastaje uslijed redistribucije i / ili molekularnih promjena postojećih melaninskih pigmenta epidermisa (36). Odgođeno tamnjenje kože nakon izloženosti UVB zračenju povezano je s povećanjem aktivnosti i broja melanocita. Aktivnost tirozinaze također raste, melanocitni dendriti se izdužuju i granaju, te broj i veličina melanosoma se povećava. Ubrzani prijenos melanina u keratinocite rezultira

velikim povećanjem granula melanina u epidermisu. Tamnjenje koje pokreće UVA ima različite učinke koji ovise o valnoj duljini. UVA zračenje između 340 i 400 nm povećava gustoću melanina lokaliziranu na sloju bazalnih stanica, dok UVA zračenje između 320 i 340 nm povećava sintezu i prijenos melaniziranih melanosoma u epidermis (50).

Akutno UV zračenje (jednokratna izloženost) inducira DNA lezije kao što su pirimidinski dimeri i (6-4) fotoproizvodi, što može dovesti do mutacija DNA ako se ne popravljaju. Kako bi se spriječile DNA mutacije, stanice su opremljene DNA mehanizmima popravka. Ako je oštećenje DNA uzrokovano UV zračenjem prejako i ne može se popraviti, aktiviraju se apoptotski putovi kako bi se uklonile oštećene stanice (50). Osim što potiče stvaranje fotodimera u genomu, UV uzrokuje mutacije stvaranjem reaktivnih kisikovih radikala (ROS) kao što su superoksidni anion, vodikov peroksid i hidroksilni radikali. Nukleotidi su vrlo osjetljivi na ozljede slobodnim radikalima (51).

UV zračenje također inducira lipidnu peroksidaciju, koja povećava proizvodnju prostaglandina kao što je prostaglandin E2 (PGE2), proupalni citokin. Ostali UV-inducirani medijatori kao što su faktor tumorske nekroze (TNF) i interleukin 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) također doprinose proupalnoj kaskadi. UV zračenje također ima i imunosupresivni učinak za koji su zaslužni supresorski T limfociti i interleukin 10 (50, 52).

#### **1.2.2.2. Kronični učinci**

Dugotrajna i rekurentna izloženost sunčevoj svjetlosti uzrokuje pojavu postupnog pogoršanje strukture i funkcije kože. Rezultat je kumulativnog oštećenja DNA što je posljedica rekurentne, akutne ozljede DNA, i učinaka kronične upale. Te štetne posljedice u konačnici mogu dovesti do razvoja raka kože (50).

Starenje kože rezultat je kroničnog izlaganja suncu. Klinički simptomi uključuju suhoću (hrapavost), nepravilnu pigmentaciju (pjegice, ravne mrlje povećane pigmentacije, perzistentnu hiperpigmentaciju), nabiranje, elastožu (finu nodularnost ili grubost) i teleangiektaziju (dilatacija postojećih krvnih žila stvarajući male fokalne crvene lezije). Ove se značajke uglavnom vide u osoba svijetle puti s poviješću izlaganja suncu i obično uključuju lice, vrat ili ekstenzorne površine gornjih ekstremiteta. Iako su UVB fotoni mnogo viših energija od UVA

fotona i uglavnom su odgovorni za opekline od sunca, sunčanje i fotokarcinogenezu, za UVA se također sumnja da igra značajnu ulogu u starenju kože (50).

Karcinogeneza se obično smatra višestupanjskim procesom koji uključuje inicijaciju, promociju i napredovanje. UV zračenje uzrokuje mutacije i povećava staničnu proliferaciju; stoga može uzrokovati rak kože bez dodatnih inicijatora ili promotora koji su prisutni i stoga se naziva "kompletnim karcinogenom". Imunosupresija također pridonosi nastanku raka kože. Karcinomi kože obično se grupiraju u dvije glavne kategorije, melanom i nemelanomski oblici raka kože (NMSC), od koji su najvažniji bazocelularni i planocelularni karcinom, temeljene na stanici porijekla i kliničkom ponašanju. Karcinogeneza UV zračenjem često uključuje inaktivaciju jednog ili više tumor supresorskih gena ili prekomjernu aktivaciju protoonkogeni koji stimuliraju rast stanice. Tumor supresorski gen p53 ima važnu ulogu te je često mutiran u ljudskom raku, uključujući raku kože, iako manje u melanomu nego ne-melanomskom obliku raka kože (53).

### 1.3. Gospina trava

#### 1.3.1. Općenito o gospinoj travi

Gospina trava (kantaron, gorač, rupičasta pljuskavica) ili lat. *Hypericum perforatum* je višegodišnja zeljasta biljka iz istoimene porodice (*Hypericaceae*) te su njezini pripravci jedni od najbolje istraženih medicinskih biljnih pripravaka. Topikalni pripravci najčešće se koriste u obliku ulja, tinktura, krema, gelova te otopina, dok se oralni pripravci koriste u obliku tableta i čajeva (54).

*Oleum Hyperici*, ulje gospine trave, jedan je od najstarijih narodnih lijekova, koji se tradicionalno koristi u lokalnom liječenju rana, modrica, ulkusa, rezova, opekline, hemoroida te kao antiseptik. Ulje gospine trave priprema se od svježeg ili suhog cvijeća ili cvjetnih nadzemnih dijelova biljke. Za pripremu ulja biljni materijal se zalijeva (u omjeru 1:4) u biljnom ulju (od maslina, suncokreta ili drugih) i čuva se na toplom mjestu za fermentaciju. Zatim se biljni materijal zdrobi, ulje filtrira, a vodenu fazu ukloni natrijevim sulfatom, staklo se zatvori i izloži sunčevom svjetlu oko 4-6 tjedana; tijekom tog vremena ulje poprima intenzivnu crvenu boju (54).

Sastojci gospine trave s farmakološkom važnošću su: floroglucinoli (hiperforin i adhiperforin), naftodiantroni (hipericin, pseudohipericin, protohipericin, protopseudohipericin, ksantoni, biflavoni, terpeni), flavonoidi (kvercetin, izokvercetin, rutin), procijanidi, tanini te male količine klorogenične kiseline. Stvarne koncentracije tih sastojaka u lokalnim pripravcima ovise o mnogim čimbenicima: zemljopisnom podrijetlu biljke, berbi divljih kultiviranih biljaka, vremenu žetve (dolazi do smanjenja naftodiantrona i povećanja floroglucinola od cvatnje do fruktifikacije), svježeg ili sušenog biljnog materijala, lipofilnosti i temperature ekstrakcijskog otapala i konačne formulacije, izlaganja sunčevoj svjetlosti, vremenu i uvjetima skladištenja. Stoga su informacije o specifičnom pripravku korištenom u pokusima ili kliničkim ispitivanjima od presudne važnosti za tumačenje i reproducibilnost podataka. To uključuje metodu proizvodnje i, kad god je to moguće, analitičke podatke o sadržaju i stabilnosti glavnih aktivnih spojeva (54).

## 1.3.2. Učinci topikalnih pripravaka gospine trave

### 1.3.2.1. Antimikrobni učinak

Brojne studije dostupne su u literaturi o *in vitro* antibakterijskom djelovanju ekstrakata biljke *Hypericum perforatum*, koji podupiru uporabu ovih biljaka u tradicionalnoj medicini za liječenje rana, kože i zaraznih bolesti. Dvije podvrste *H. perforatum* bile su posebno aktivne protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Rezultati su pokazali da su hipericin i hiperforin glavne komponente odgovorne za antimikrobno djelovanje, ali ne i jedine. Kloroformski ekstrakti iz 34 vrste i sorte *Hypericum* pokazali su se korisnim protiv kliničkog izolata *Staphylococcus aureus* otpornog na meticilin, koji je osim toga imao mehanizam višestrukog izlivanja lijekova te je dao visoku razinu otpornosti na terapijski korisne antibiotike. Antibakterijska aktivnost *H. perforatum* bila je veća kada su biljke prikupljene u kolovozu u odnosu na srpanj, što odražava porast sadržaja hiperforina s fruktifikacijom. Floroglucinoli i naftodiantroni najvažnije su antibakterijske komponente, dok se čini da su flavonoidi neaktivni. Pokazano je da su lipofilne formulacije učinkovitije od hidrofilnih. Antivirusna aktivnost nekoliko sastojaka *H. perforatum* protiv mnogih oblika virusa *in vitro* dokazana je u posljednjih 40 godina, uključujući *herpes simplex* virus tip 1 i 2 (55).

### 1.3.2.2. Antioksidativni učinak

Antioksidativna svojstva standardiziranih vodeno-alkoholnih ekstrakata *H. Perforatum* nađena su *in vitro*. U modelu bez stanica i ljudskom vaskularnom tkivu ispitan je učinak na proizvodnju superoksida ksantin/ksantin oksidazom. Oba modela pokazala su prooksidacijske učinke u vrlo visokim koncentracijama, a antioksidativni učinci obrnuto su povezani s dozom u seriji razrjeđenja. Antioksidativni učinci vodeno-alkoholnih ekstrakata nisu iznenađujući jer sadrže do 10% flavonoida koji su dobro poznati antioksidansi. Vrste *Hypericum* bogatije polifenolima pokazuju izraženija antioksidativna svojstva. Ekstrakti *H. perforatum* također inhibiraju lipidnu peroksidaciju, što je štetan učinak reaktivnih vrsta kisika, koji dovodi do oksidativne degradacije lipida, oštećenja membrane i stanične smrti. Hiperforin smanjuje oksidativni stres uzrokovan ultraljubičastim zračenjem bez fototoksičnih učinaka *in vitro* (56).



### 1.3.2.3. Fotosenzitizacija

Dok *Hypericum perforatum* djeluje antioksidativno, on također sadrži komponente koje mogu uzrokovati fototoksična oštećenja stanica. Otkriveno je da mnogi od sastojaka *H. perforatum* mogu proći fotokemijske reakcije i proizvesti reaktivne vrste kisika, ali samo hipericin, pseudohipericin i hiperforin mogu uzrokovati peroksidaciju lipida, a nijedan nije uzrokovao lomove DNA. Fotoirritantni potencijal uglavnom se može pripisati hipericinima. Lokalna primjena ekstrakta *H. perforatum* ili izoliranog hipericina može uzrokovati fotoritaciju ili fototoksičnost ovisno o koncentraciji i intenzitetu zračenja. To je nepoželjan učinak kod zacjeljivanja rana ili liječenja upala, ali otvara novu mogućnost u fotodinamičkoj terapiji (PDT) raka kože ili psorijaze, na primjer (57).

### 1.3.2.4. Protuupalni učinak

Protuupalni učinci *Hypericum perforatum* i izoliranih sastojaka pokazani su brojnim istraživanjima. Najvažniji protuupalni sastojak pokazao se hiperforin koji djeluje na inhibiciju ciklooksigenaze-1 i 5-lipooksidaze, produkciju interferona  $\gamma$ , regulaciju matriksnih metaloproteinaza 9 te na aktivirane limfocite T. Hipericin je također pokazao protuupalne učinke kao što su inhibicija interleukina 12 te njegova promotorskog gena u mišjim makrofagima (62).

### 1.3.2.5. Protutumorski učinci

U farmakološkim istraživanjima otkrivena su dva različita polja antikancerogenih učinaka *Hypericum perforatum*: svjetlosno ovisni mehanizmi povezani s fotoaktivacijom hipericina i svjetlosno neovisnih mehanizama koji se mogu pripisati hiperforinu. Istraženi su učinci pseudohipericina i hipericina koji induciraju fototoksičnost i apoptozu u stanicama humanog leukemijskog limfoma te je otkrivena inhibicija stanične proliferacije u kombinaciji s fragmentacijom deoksiribonukleinske kiseline pod zračenjem s vidljivim svjetlom. Pokazano je da hiperforin inhibira rast tumorskih stanica indukcijom apoptoze. Hiperforin *in vitro* inhibira

rast različitih životinjskih i ljudskih linija tumorskih stanica (uključujući i skvamozne i melanomske) te se pokazao kao inhibitor angiogeneze (58).

### **1.3.3. Učinci na cijeljenje oštećenja kože**

*Hypericum perforatum* prepoznat je kao tradicionalni narodni lijek koji se topikalno koristi za liječenje rana, ogrebotina, rezova, opekline, ulkusa i upalnih poremećaja kože. Njegova uporaba u zacjeljivanju rana može se opravdati protuupalnim i antimikrobnim učincima. Također stimulira rast tkiva i diferencijaciju stanica, jer je pokazano da jedan od glavnih sastojaka, hiperforin, aktivira kanal TRPC6 koji je prepoznat kao aktivator diferencijacije keratinocita. Još jedna potencijalno korisna aktivnost može biti njezin inhibitorni učinak na epidermalne Langerhansove stanice. Nadalje, *in vivo* istraživanje je pokazalo njegov potencijal s poboljšanim zacjeljivanjem rana u različitim životinjskim modelima rana. Naposljetku, provedeno je nekoliko kliničkih studija koje su ispitivale njezine učinke na liječenje atopijskog dermatitisa, zacjeljivanje rana nakon carskog reza i epiziotomiju, kao i zacjeljivanje post-kirurških rana na vlasištu, dekubitusa i venskih ulkusa (59-64).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog istraživanja jest utvrditi postojanje zaštitnih učinaka gospine trave na poremećaje funkcije kože izazvane izlaganjem UV zrakama.

**Hipoteza:** Gospina trava pokazuje zaštitne učinke na poremećaj funkcije kože izazvan izlaganjem UV zrakama.

### **3. ISPITANICI I METODE**

### **3.1. Organizacija i opis istraživanja**

Proveden je randomizirani kontrolirani pokus koji se odvijao na Medicinskom fakultetu u Splitu u razdoblju od 1. veljače do 1. svibnja 2019. godine. Svi ispitanici su obaviješteni o postupcima, tijeku i svrsi istraživanja te su pojedinačno potpisali informirani pisani pristanak prije početka samog istraživanja. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Splitu te je provedeno sukladno etičkim načelima sedme rezivije Helsinške deklaracije iz 2013. godine.

### **3.2. Ispitanici**

U ovo istraživanje uključeno je 28 ispitanika u dobi od 18 do 65 godina od kojih je 10 bilo muškaraca i 18 žena. Kriteriji uključivanja bili su zdrave osobe bez dijagnosticiranih kožnih bolesti. Kriteriji isključenja bili su korištenje kortikosteroida, imunomodulatora i antihistaminika unutar tri tjedna od početka ispitivanja, korištenje emolijentnih pripravaka unutar tri dana od početka ispitivanja, korištenje fotosenzibilizirajućih lijekova, ozbiljna sustavna bolest, imunosupresija, karcinom kože, poremećaji pigmentacije kože i fotosenzibilnosti, trudnoća i dojenje.

### **3.3. Mjerenje parametara kože**

Ispitivana područja kože gdje su mjereni parametri bile su obje podlaktice ispitanika. Na jednu podlakticu se koristila formulacija koja je sadržavala ulje *Hypericum perforatum*, dok se na drugu koristio placebo. Na podlakticama su označena četiri polja od kojih su tri bila izložena različitim oštećenjima, a četvrto polje je ostalo intaktno. Tretirana podlaktica i redosljed polja izloženih oštećenjima te intaktnog kontrolnog polja odabrani su računalnim programom „Research Randomizer“ (Geoffrey C. Urbaniak i Scott Plous), a sam redosljed polja unutar jednog ispitanika bio je identičan na obje podlaktice. Ispitivanje je za svakog ispitanika trajalo 11 dana. Prvi dan su mjerene početne vrijednosti kožnih parametara te je učinjena intervencija UV zračenjem. Drugi dan su također mjerene početne vrijednosti kožnih parametara te je dana terapija. Treći, četvrti i peti dan su mjerene vrijednosti oporavka kože te je dana terapija. Šesti i sedmi dan je primjenjivana sama terapija. Osmi dan je mjerena oporavak kože te je dana terapija. Deveti i deseti dan je dana terapija te je konačno jedanaesti dan mjerena vrijednost oporavka kože.

Mjerenja su vršena uređajem MPA 6 (Courage+Khazaka, Köln, Njemačka) s tri sonde u prostoriji temperature 20-22 °C, relativne vlažnosti 40-60%. Za održavanje vlažnosti prostorije korišten je ovlaživač zraka Gorenje H30DV (Gorenje, Velenje, Slovenija). Ispitanici

su bili aklimatizirani 15 minuta na uvjete prostorije s otkrivenim testnim poljima prije samih mjerenja.

Mjerenje transepidermalnog gubitka vode izvođeno je sondom Tewameter TM300 (Courage+Khazaka, Köln, Njemačka) te je izraženo u g/hm<sup>2</sup>. Mjerenje je bilo kontinuirano (minimalno 20 mjerenja) dok se nije dosegla vrijednost standardne devijacije (SD) manja od 0,2. Mjerenje vlažnosti kože izvođeno je sondom Corneometer CM825 (Courage+Khazaka, Köln, Njemačka). To je relativno mjerenje te su korištene proizvoljne jedinice. Za mjerenje melanina i eritema korištena je sonda Mexameter MX18 (Courage+Khazaka, Köln, Njemačka). Također relativno mjerenje te su korištene proizvoljne jedinice. Sva mjerenja su izvođena 1., 2., 3., 4., 5., 8. i 11. dan ispitivanja.

### **3.4. Intervencija UV zračenjem**

Na obje podlaktice se postavila zaštitna tkanina s otvorom površine 1cm<sup>2</sup> iznad polja predviđenog za UV zračenje. Korištena je UV lampa ULTRA VITALUX 300 W 230 V E27 (Osram, München, Njemačka). Prije same intervencije se očitala vrijednost izvora zračenja uređajem YK-35 UV (Lutron electronic enterprise, Taipei, Tajvan) na udaljenosti od 45 cm od izvora zračenja te se izračunalo vrijeme potrebno da se dostigne željena doza UV zračenja od 3 J/cm<sup>2</sup>. Formula po kojoj se vrijeme računalo je:

$$t\text{-vrijeme (s)} = \text{doza (3000 mJ/cm}^2\text{)} / \text{očitana vrijednost žarulje (mW/cm}^2\text{)}$$

Izložena koža bila je postavljena izravno ispod žarulje na udaljenosti od 45 cm. Korištene su zaštitne naočale te zaštitna pregrada oko same lampe.

### **3.5. Terapija**

Korištena su dva pripravka od kojih je jedan sadržavao aktivni sastojak (*Hypericum perforatum*), a drugi je bio placebo. Ispitanici su tijekom 8 dana samoaplicirali dva puta dnevno (ujutro nakon mjerenja i navečer) pripravke i to počevši od 2. do 10. dana ispitivanja. Pripravci su bili u jednokratnim posudama koje su podijeljene na dvije komorice. Svaka od komorica je imala oznaku L ili D koja je označavala na koju podlakticu (lijevu ili desnu) ide pripravak iz komorice.

Aktivni pripravak sastojao se od 25% uljnog macerata *Hypericum perforatum* (25% maslinovo ulje + 75% suncokretovo ulje) i vazelina (do 100%). Svaka doza je sadržavala 4 grama uljnog macerata *H. perforatum* i vazelina do 20 grama.

Placebo pripravak sastojao se od 20%-tne uljne podloge (25% maslinovog ulja + 75% suncokretovog ulja), bojila i vazelina (do 100%). Svaka doza je sadržavala 1 gram maslinovog ulja, 3 grama suncokretovog ulja, 40 $\mu$ L bojila ( E122 Azorubin, E124 Košenil crveno A, E103 Tartrazin) te vazelina do 20 grama.

### **3.6. Statistička obrada**

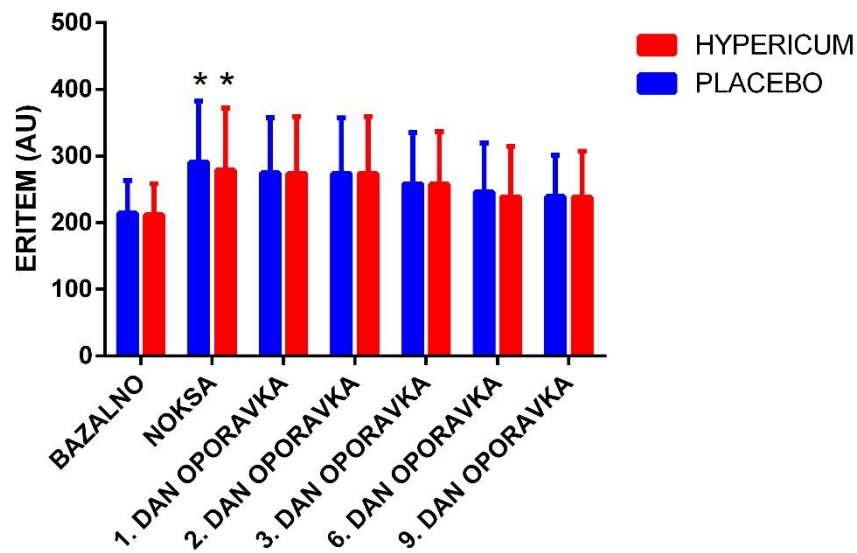
U statističkoj obradi podataka korišten je računalni program Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, Redmond, Washington, SAD), a podaci su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Za usporedbu parametara između placebo skupine i skupine s gospinom travom korištena je dvosmjerna analiza varijance sa Sidak *post-hoc* testom (GraphPad Software inc., La Jolla, California, USA). Za izradu grafova korišten je GraphPad Prism 6 (GraphPad Software inc., La Jolla, California, SAD). Razina statističke značajnosti postavljena je na  $P < 0,05$ .



## **4. REZULTATI**

## Eritem

Na slici 3. prikazane su promjene srednjih vrijednosti eritema između skupine koja je koristila placebo i *Hypericum perforatum* u vremenu trajanja ispitivanja. Korištena je dvosmjerna analiza varijance za ponovljena mjerenja, uzorci su vezani kroz vremensko razdoblje u trajanju od 10 dana. Sidak *post hoc* test je pronašao statistički značajnu razliku između bazalne i vrijednosti nokse u obje skupine ( $P < 0,001$ ). Bazalne vrijednosti se nisu značajno razlikovale između skupina. Nakon nokse došlo je do promjene vrijednosti eritema u obje skupine. Tijekom devet dana oporavka vrijednosti eritema su polako dolazile na bazalnu vrijednost. Nije utvrđena razlika između vrijednosti eritema skupine koja je koristila pripravke gospine trave u odnosu na placebo skupinu ( $P = 0,8474$ ).



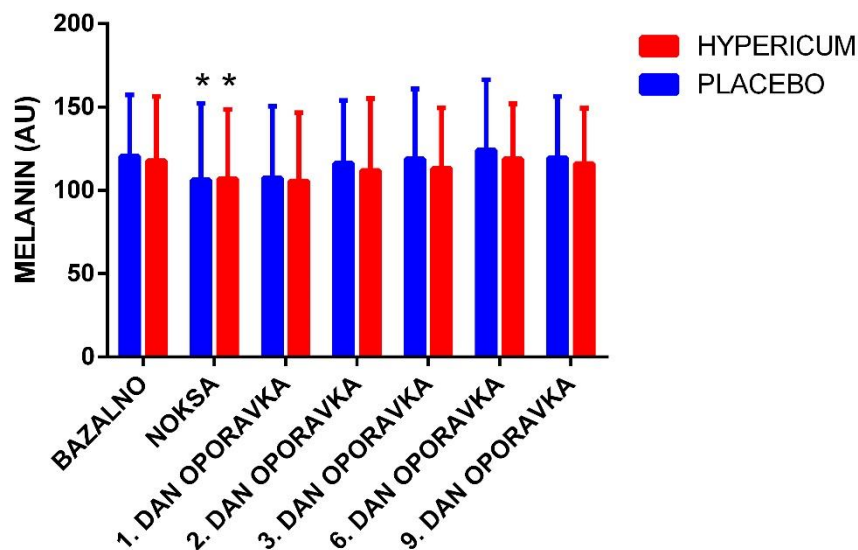
**Slika 3.** Prikaz kretanja srednjih vrijednosti eritema između placeba i *Hypericum perforatum* u vremenu trajanja ispitivanja

Podatci izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija

\*  $P < 0,001$ , dvosmjerna analiza varijance, Sidak *post hoc* test- razlika vrijednosti nakon nokse u odnosu na bazalnu vrijednost

## Melanin

Promjene srednjih vrijednosti melanina tijekom ispitivanja između skupine koja je koristila placebo i skupine s *Hypericum perforatum* su prikazane na slici 4. Korištena je dvosmjerna analiza varijance za ponovljena mjerenja, uzorci su vezani kroz vremensko razdoblje od 10 dana. Sidak *post hoc* test je pronašao statistički značajnu razliku između bazalne i vrijednosti nakon u obje skupine ( $P < 0,001$ ). Bazalne vrijednosti se nisu značajno razlikovale između skupina. Nakon nokse došlo je do promjene vrijednosti melanina u obje skupine. Tijekom devet dana oporavka vrijednosti melanina su se polako vraćale na bazalnu vrijednost. Nije utvrđena razlika vrijednosti melanina skupine koja je koristila pripravke gospine trave u odnosu na placebo skupinu ( $P = 0,7468$ ).



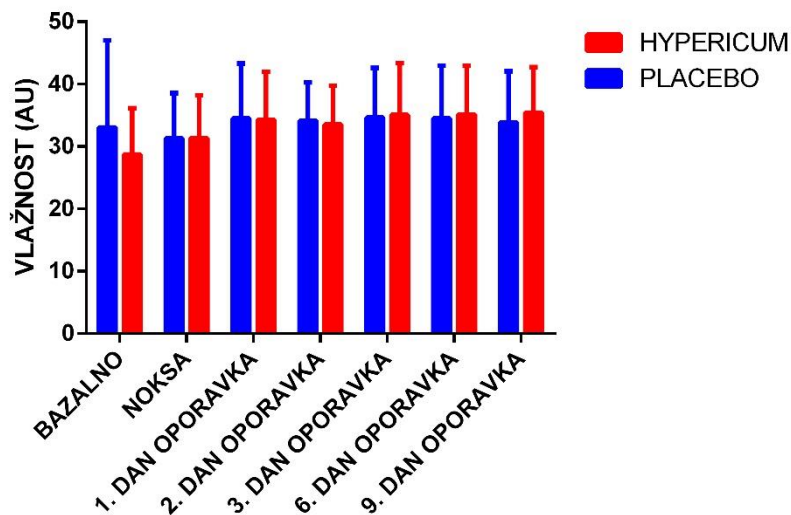
**Slika 4.** Prikaz kretanja srednjih vrijednosti melanina između placeba i *Hypericum perforatum* u vremenu trajanja ispitivanja

Podatci izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija

\*  $P < 0,001$ , dvosmjerna analiza varijance, Sidak *post hoc* test, razlika vrijednosti nakon nokse u odnosu na bazalnu vrijednost

## Vlažnost kože

Na slici 5. su prikazane promjene vrijednosti vlažnosti kože između placeba i *Hypericum perforatum*. Korištena je dvosmjerna analiza varijance za ponovljena mjerenja, uzorci su vezani kroz vremensko razdoblje od 10 dana. Sidak *post hoc* test nije pronašao statistički značajnu razliku između bazalne i vrijednosti nokse ni u jednoj skupini. Bazalne vrijednosti se nisu značajno razlikovale između skupina. Nije utvrđena razlika vrijednosti vlažnosti kože skupine koja je koristila pripravke gospine trave u odnosu na placebo skupinu ( $P=0,8011$ ).



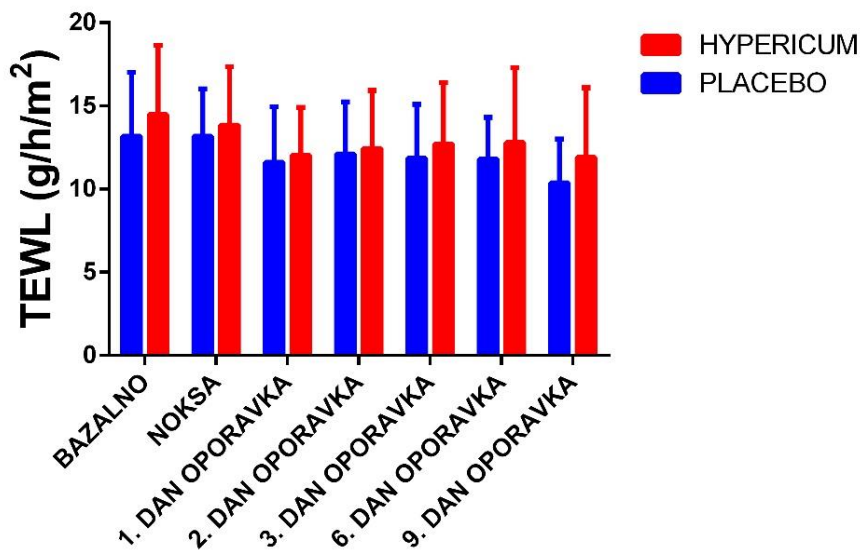
**Slika 5.** Prikaz kretanja srednjih vrijednosti vlažnosti kože između placeba i *Hypericum perforatum* u vremenu trajanja ispitivanja.

Podatci izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

Korištena je dvosmjerna analiza varijance za ponovljena mjerenja.

## Transepidermalni gubitak vode

Promjene TEWL vrijednosti tijekom ispitivanja između skupine s placebo i *Hypericum perforatum* prikazane su na slici 6. Korištena je dvosmjerna analiza varijance za ponovljena mjerenja, uzorci su vezani kroz vremensko razdoblje u trajanju od 10 dana. Sidak *post hoc* test nije pronašao statistički značajnu razliku između bazalne i vrijednosti nokse u obje skupine. Bazalne vrijednosti se nisu značajno razlikovale između skupina. Nije utvrđena razlika TEWL vrijednosti između skupine koja je koristila pripravke gospine trave u odnosu na placebo ( $P=0,2413$ ).



**Slika 6.** Prikaz kretanja srednjih vrijednosti TEWL-a između placeba i *Hypericum perforatum* u vremenu tijekom ispitivanja

Podatci izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

Korištena je dvosmjerna analiza varijance za ponovljena mjerenja.

## **5. RASPRAVA**

Pojava eritema tj. crvenila kože kao odgovor na izlaganje UV zračenju očekivana je upalna reakcija kože u kojoj dolazi do dilatacije krvnih žila u dermisu. Osim crvenila može se pojaviti toplina i osjetljivost kože. Sklar i sur. navode kako eritem izazvan UV zračenjem postiže svoj vrhunac između 6 i 24 h nakon izlaganja. Eritem ovisi o tipu kože, dozi i valnoj duljini UV zraka. Tako primjerice, trenutni eritematozni odgovor se vidi samo kod osoba svjetlije puti, dok je kod osoba tamnije puti potrebna veća doza UV zračenja za izazivanje eritema zbog količine melaninskog pigmenta koji čini kožu manje osjetljivom na UV zračenje. Zabilježeno je da eritem blijedi nakon 1 do 3 dana, dok kod osoba svjetle puti može trajati i do 2 tjedna. (65). U našoj studiji je pokazano statistički značajno povećanje eritema kože 24 sata nakon izlaganja UV zračenju te je zabilježeno blago smanjenje eritema u tijeku oporavka, odnosno trajanja samog ispitivanja (10 dana) što je u skladu s dosadašnjim spoznajama o tome.

*Hypericum perforatum* prepoznat je kao tradicionalni narodni lijek koji se topikalno koristi za liječenje rana, ogrebotina, rezova, opekline, ulkusa i upalnih poremećaja kože. Schemmp i sur. su u svom kliničkom istraživanju pokazali da je gospina trava učinkovitija u liječenju atopičkog dermatitisa od placeba. Učinkovitost je pokazana mjerenjem „*Scoring Atopic Dermatitis*“ indeksa (SCORAD). SCORAD indeks je klinički alat za procjenu težine (tj. opsega, intenziteta) atopijskog dermatitisa što je moguće objektivnije te u kojem se među ostalim parametrima kože ocjenjuje i eritem (60). Rezultati naše studije nisu dokazali učinkovitost gospine trave u smanjenju eritema kože nakon UV zračenja u usporedbi s placebom, no valja naglasiti da je mjerenje eritema izvođeno Mexametrom, dakle objektivno, dok su Schemmp i sur. ocjenjivali eritem klinički, tj. subjektivno.

UV-posredovano tamnjenje kože je zapravo dvofazno, s trenutačnim tamnjenjem kože koje nastaje uslijed redistribucije i/ili molekularnih promjena postojećeg melanina u epidermisu te traje od nekoliko minuta do 2 sata. Odgođeno tamnjenje kože, posredovano stvarnom regulacijom sinteze i prijenosa melanina u keratinocyte, započinje nekoliko sati do dana nakon izlaganja UV zračenju, a može trajati od nekoliko dana do nekoliko tjedana (1). U našim rezultatima uočeno je značajno smanjenje količine melanina u obje skupine 24 sata nakon izlaganja UV zračenju te postupno vraćanje na bazalne vrijednost tijekom oporavka. Prema našim saznanjima, trenutno nema studija koje su pokazale takav učinak UV zračenja na melanin, dapače brojne studije ukazuju na suprotan učinak u kojem se količine melanina povećavaju nakon izlaganja UV zračenju (65). Uzrok rezultatima suprotnim dosadašnjim rezultatima brojnih studija i to u obje skupine (placebo i *Hypericum perforatum*) nije poznat, ali možemo razmotriti mogućnost antioksidativnog djelovanja nekog zajedničkog sastojka

placeba i ulja gospine trave, obzirom da je poznato da je ključan korak u sintezi melanina proces oksidacije tirozina (33, 54). U svom istraživanju Meinke i sur. su dokazali da hiperforin, jedan od sastojaka *Hypericum perforatum*, pokazuje izrazita antioksidativna svojstva, no treba naglasiti da su istraživanje proveli *in vitro* na modelima životinjske kože te da nam i dalje ostaje pitanje točnog sastojka placeba koji posjeduje takva svojstva (56).

Vlažnost kože definirana je kao količina vode akumulirana u rožnatom sloju epidermisa (27). Na ispravnu razinu vlage utječu čimbenici kao što je količina vode koja se dobavlja iz donjih slojeva epidermisa, dermisa i lojnih žlijezda, kao i količina vode koja se gubi isparavanjem i sposobnost rožnatog sloja da akumulira vodu. Gubitak vode kroz epidermis opisuje se pomoću TEWL vrijednosti i utječe na razinu vlage epidermisa (28, 29). Transepidermalni gubitak vode je parametar koji odražava integritet vodenog sloja epidermisa i vrlo je osjetljiv pokazatelj oštećenja barijere epidermisa (23, 26, 30, 31). Naši rezultati su pokazali da nakon UV zračenja ne dolazi do značajne promjene u vrijednosti vlažnosti kože kao ni u TEWL vrijednosti u obje skupine ispitanika. Nismo uspjeli pronaći radove u kojima se ispitivala vlažnost kože i TEWL vrijednost u korelaciji s UV zračenjem. Gospina trava se nije pokazala učinkovitom u poboljšanju vlažnosti kože kao ni TEWL vrijednosti u odnosu na placebo. Nisu pronađena istraživanja o utjecaju gospine trave na navedene parametre kože te je potrebno provesti istraživanja u budućnosti na ovu temu.

Najvažnija ograničenja naše studije su potencijalna greška ispitanika prilikom primjene krema. Postoji mogućnost slučajne pogreške ispitanika prilikom primjene krema u vidu zamjene ruku na koju se primjenjuje placebo ili aktivna krema, preskakanja doze lijeka i dozirnih intervala. Mogućnost pogreške svedena je na minimum korištenjem oznaka L (lijeva) i D (desna) na posudama, zahtjevom za vraćanjem praznih posuda kao dokaz primjene krema te podsjetnikom ispitanika na redovitu primjenu krema. Ispitivanje samo jedne doze aktivne supstance, koja je moguće bila preniska, također je jedan od nedostataka studije. Vrijedi napomenuti da su ispitanici bili mlađa populacija (srednja dob 23,6; SD 1,4) te da su svi bili bijele rase. Potrebno je potvrditi rezultate na većem broju ispitanika, uključiti ispitanike širih dobnih skupina te ispitati različite doze aktivne tvari korištene u studiji.



Budući da je ovo prvo istraživanje koje ispituje učinke *Hypericum perforatum* na poboljšanje funkcije kože nakon oštećenja kože uzrokovanog izlaganjem UV zrakama, treba naglasiti potrebu za daljnjim istraživanjima na ovu temu kako bi se ustanovili složeni učinci gospine trave na različite parametre kože nakon UV zračenja.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Gospina trava ne pokazuje zaštitne učinke na poremećaj funkcije kože izazvan izlaganjem UV zrakama.
2. Potrebno je provesti više istraživanja u budućnosti na ovu temu kako bi se razjasnili višestruki učinci pripravaka gospine trave na promjene parametara kože uzrokovane UV zračenjem.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. D'Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci*. 2013;14:12222-48.
2. Lipozenčić J. Uloga kože, razvitak kože, pregled građe i funkcija kože. U: Lipozenčić J, urednik. *Dermatovenerologija*. 3. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2008. str. 5-9.
3. Boer M, Duchnik E, Maleszka R, Marchlewicz M. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. *Postepy Dermatol Alergol*. 2016;33:1-5.
4. Hu MS, Borrelli MR, Hong WX, Malhotra S, Cheung ATM, Ransom RC, i sur. Embryonic skin development and repair. *Organogenesis*. 2018;14:46-63.
5. Fuchs E. Scratching the surface of skin development. *Nature*. 2007;445:834-42.
6. McGrath A, Eady RAJ, Pope FM. *Anatomy and Organization of Human Skin*. U: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, urednici. *Rook's Textbook of Dermatology*. 7. izdanje. New York: Oxford University Press; 2008. str. 1-15.
7. Foster CA, Holbrook KA, Farr AG. Ontogeny of Langerhans cells in human embryonic and fetal skin: expression of HLA-DR and OKT-6 determinants. *J Invest Dermatol*. 1986;86:240-3.
8. Moll R, Moll I, Franke WW. Identification of Merkel cells in human skin by specific cytokeratin antibodies: changes of cell density and distribution in fetal and adult plantar epidermis. *Differentiation*. 1984;28:136-54.
9. Menon GK. New insights into skin structure: scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002;54 Suppl 1:S3-17.
10. Marks JG, Miller JJ. *Structure and Function of the Skin*. U: Marks JG, Miller JJ, urednici. *Lookingbill and Marks' principles of dermatology*. 6. izdanje. London: Elsevier; 2019. str. 2-10.
11. Williams ML, Elias PM. From basket weave to barrier. Unifying concepts for the pathogenesis of the disorders of cornification. *Arch Dermatol*. 1993;129:626-9.
12. Thody AJ, Higgins EM, Wakamatsu K, Ito S, Burchill SA, Marks JM. Pheomelanin as well as eumelanin is present in human epidermis. *J Invest Dermatol*. 1991;97:340-4.

13. Bauer J, Bahmer FA, Worl J, Neuhuber W, Schuler G, Fartasch M. A strikingly constant ratio exists between Langerhans cells and other epidermal cells in human skin. A stereologic study using the optical disector method and the confocal laser scanning microscope. *J Invest Dermatol.* 2001;116:313-8.
14. Smith KR, Jr. The ultrastructure of the human Haarscheibe and Merkel cell. *J Invest Dermatol.* 1970;54:150-9.
15. Baroni A, Buommino E, De Gregorio V, Ruocco E, Ruocco V, Wolf R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clin Dermatol.* 2012;30:257-62.
16. Zouboulis CC. Acne and sebaceous gland function. *Clin Dermatol.* 2004;22:360-6.
17. Rudikoff D. The effect of dryness on the skin. *Clin Dermatol.* 1998;16:99-107.
18. Paillet-Mattei C, Nicoli S, Pirot F, Vargiolu R, Zahouani H. A new approach to describe the skin surface physical properties in vivo. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2009;68:200-6.
19. Youn SW, Na JI, Choi SY, Huh CH, Park KC. Regional and seasonal variations in facial sebum secretions: a proposal for the definition of combination skin type. *Skin Res Technol.* 2005;11:189-95.
20. Giacomoni PU, Mammone T, Teri M. Gender-linked differences in human skin. *J Dermatol Sci.* 2009;55:144-9.
21. Thormar H, Hilmarsson H. The role of microbicidal lipids in host defense against pathogens and their potential as therapeutic agents. *Chem Phys Lipids.* 2007;150:1-11.
22. Youn SW, Kim SJ, Hwang IA, Park KC. Evaluation of facial skin type by sebum secretion: discrepancies between subjective descriptions and sebum secretion. *Skin Res Technol.* 2002;8:168-72.
23. Tagami H. Location-related differences in structure and function of the stratum corneum with special emphasis on those of the facial skin. *Int J Cosmet Sci.* 2008;30:413-34.
24. El Maghraby GM, Barry BW, Williams AC. Liposomes and skin: from drug delivery to model membranes. *Eur J Pharm Sci.* 2008;34:203-22.
25. Lambers H, Piessens S, Bloem A, Pronk H, Finkel P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmet Sci.* 2006;28:359-70.

26. Plasencia I, Norlen L, Bagatolli LA. Direct visualization of lipid domains in human skin stratum corneum's lipid membranes: effect of pH and temperature. *Biophys J.* 2007;93:3142-55.
27. O'Goshi K, Serup J. Inter-instrumental variation of skin capacitance measured with the Corneometer. *Skin Res Technol.* 2005;11:107-9.
28. Holm EA, Wulf HC, Thomassen L, Jemec GB. Instrumental assessment of atopic eczema: validation of transepidermal water loss, stratum corneum hydration, erythema, scaling, and edema. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55:772-80.
29. Mavona A RD, Humbert P, Agache P, Galla Y. Changes in sebum levels and skin surface free energy components following skin surface washing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 1998.;10:243-50.
30. Huang HC, Chang TM. Ceramide 1 and ceramide 3 act synergistically on skin hydration and the transepidermal water loss of sodium lauryl sulfate-irritated skin. *Int J Dermatol.* 2008;47:812-9.
31. Ramos-e-Silva M, da Silva Carneiro SC. Elderly skin and its rejuvenation: products and procedures for the aging skin. *J Cosmet Dermatol.* 2007;6:40-50.
32. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev.* 2004;84:1155-228.
33. Riley PA. Melanin. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997;29:1235-9.
34. Meredith P, Sarna T. The physical and chemical properties of eumelanin. *Pigment Cell Res.* 2006;19:572-94.
35. Ito S, Wakamatsu K, Ozeki H. Chemical analysis of melanins and its application to the study of the regulation of melanogenesis. *Pigment Cell Res.* 2000;13 Suppl 8:103-9.
36. Vincensi MR, d'Ischia M, Napolitano A, Procaccini EM, Riccio G, Monfrecola G, et al. Phaeomelanin versus eumelanin as a chemical indicator of ultraviolet sensitivity in fair-skinned subjects at high risk for melanoma: a pilot study. *Melanoma Res.* 1998;8:53-8.
37. Boulant JA. Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever. *Clin Infect Dis.* 2000;31 Suppl 5:S157-61.
38. Johnson JM. Exercise and the cutaneous circulation. *Exerc Sport Sci Rev.* 1992;20:59-97.

39. Richardson M. Understanding the structure and function of the skin. *Nurs Times*. 2003;99:46-8.
40. Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, Bunnett NW, Steinhoff M. Neuronal control of skin function: the skin as a neuroimmunoendocrine organ. *Physiol Rev*. 2006;86:1309-79.
41. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006;92:4-8.
42. Zouboulis CC. The human skin as a hormone target and an endocrine gland. *Hormones (Athens)*. 2004;3:9-26.
43. Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:679-91.
44. Lai Y, Gallo RL. AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends Immunol*. 2009;30:131-41.
45. Albanesi C, Scarponi C, Giustizieri ML, Girolomoni G. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005;4:329-34.
46. Nickoloff BJ, Mitra RS, Green J, Zheng XG, Shimizu Y, Thompson C, et al. Accessory cell function of keratinocytes for superantigens. Dependence on lymphocyte function-associated antigen-1/intercellular adhesion molecule-1 interaction. *J Immunol*. 1993;150:2148-59.
47. Foster CA, Yokozeki H, Rappersberger K, Koning F, Volc-Platzer B, Rieger A, et al. Human epidermal T cells predominantly belong to the lineage expressing alpha/beta T cell receptor. *J Exp Med*. 1990;171:997-1013.
48. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol*. 2001;79:547-68.
49. Bayerl C, Taake S, Moll I, Jung EG. Characterization of sunburn cells after exposure to ultraviolet light. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1995;11:149-54.
50. Matsumura Y, Ananthaswamy HN. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004;195:298-308.
51. Meyskens FL, Jr., Farmer P, Fruehauf JP. Redox regulation in human melanocytes and melanoma. *Pigment Cell Res*. 2001;14:148-54.
52. Tran TT, Schulman J, Fisher DE. UV and pigmentation: molecular mechanisms and social controversies. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2008;21:509-16.



53. Narayanan DL, Saladi RN, Fox JL. Ultraviolet radiation and skin cancer. *Int J Dermatol.* 2010;49:978-86.
54. Wolfle U, Seelinger G, Schempp CM. Topical application of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Med.* 2014;80:109-20.
55. Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.* 2010;131:511-21.
56. Meinke MC, Schanzer S, Haag SF, Casetti F, Muller ML, Wolfle U, i sur. In vivo photoprotective and anti-inflammatory effect of hyperforin is associated with high antioxidant activity in vitro and ex vivo. *Eur J Pharm Biopharm.* 2012;81:346-50.
57. Onoue S, Seto Y, Ochi M, Inoue R, Ito H, Hatano T, i sur. In vitro photochemical and phototoxicological characterization of major constituents in St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts. *Phytochemistry.* 2011;72:1814-20.
58. Schempp CM, Simon-Haarhaus B, Termeer CC, Simon JC. Hypericin photo-induced apoptosis involves the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and activation of caspase-8. *FEBS Lett.* 2001;493:26-30.
59. Schempp CM, Winghofer B, Ludtke R, Simon-Haarhaus B, Schopf E, Simon JC. Topical application of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and of its metabolite hyperforin inhibits the allostimulatory capacity of epidermal cells. *Br J Dermatol.* 2000;142:979-84.
60. Schempp CM, Windeck T, Hezel S, Simon JC. Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's wort cream--a randomized, placebo controlled, double blind half-side comparison. *Phytomedicine.* 2003;10 Suppl 4:31-7.
61. Samadi S, Khadivzadeh T, Emami A, Moosavi NS, Tafaghodi M, Behnam HR. The effect of *Hypericum perforatum* on the wound healing and scar of cesarean. *J Altern Complement Med.* 2010;16:113-7.
62. Lauchli S, Hafner J, Wehrmann C, French LE, Hunziker T. Post-surgical scalp wounds with exposed bone treated with a plant-derived wound therapeutic. *J Wound Care.* 2012;21:228-33.
63. Suntar IP, Akkol EK, Yilmazer D, Baykal T, Kirmizibekmez H, Alper M, i sur. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.* 2010;127:468-77.

64. Yucel A, Kan Y, Yesilada E, Akin O. Effect of St.John's wort (*Hypericum perforatum*) oily extract for the care and treatment of pressure sores; a case report. *J Ethnopharmacol.* 2017;196:236-41.
65. Sklar LR, Almutawa F, Lim HW, Hamzavi I. Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review. *Photochem Photobiol Sci.* 2013;12:54-64.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Svrha ovog istraživanja bila je utvrditi postojanje zaštitnih učinaka gospine trave na poremećaje funkcije kože izazvane izlaganjem UV zrakama.

**Ispitanici i metode:** Proveden je randomizirani kontrolirani pokus koji se odvijao na Medicinskom fakultetu u Splitu u razdoblju od 1. veljače do 1. svibnja 2019. godine, a koji je obuhvatio 28 zdravih ispitanika bez dijagnosticiranih kožnih bolesti. Ispitivana područja kože bila su na objema podlakticama ispitanika. Korišten je uređaj MPA 6 (Courage+Khazaka, Koln, Njemačka) s tri sonde za mjerenje TEWL (engl. *transepidermal waterloss*) vrijednosti, vlažnosti kože, eritema te melanina. Doza UV zračenja koja se primjenjivala na podlaktici bila je 3 J/cm<sup>2</sup>. Korištena su dva pripravka od kojih je jedan sadržavao aktivni sastojak (*Hypericum perforatum*), a drugi je bio placebo.

**Rezultati:** Nisu pronađene statistički značajne razlike u ispitanim parametrima kože (eritem, vlažnost kože, melanin i TEWL) između skupine koja je koristila pripravke gospine trave u odnosu na placebo skupinu.

**Zaključci:** Naše istraživanje pokazalo je da gospina trava nema zaštitnih učinaka na poremećaje funkcije kože izazvane izlaganjem UV zrakama te da je potrebno u budućnosti provesti više istraživanja na ovu temu.

## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis title:** Investigation of Saint John`s Wort effects on changes in skin parameters after damage caused by the exposure to ultraviolet radiation

**Aim of the study:** The purpose of this study was to determine the presence of protective effects of *Hypericum perforatum* on skin function disorders caused by exposure to UV rays.

**Subjects and Methods:** A randomized controlled trial was conducted at the Medical School in Split during the period from 1st of February until 1st of May 2019, which included 28 healthy subjects without diagnosed skin diseases. The examined areas of the skin were on both forearms of the examinees. A MPA 6 (Courage + Khazaka, Koln, Germany) device was used with three probes for measuring the TEWL (transepidermal waterloss) value, skin moisture, erythema and melanin. The UV radiation dose applied to the forearm was 3 J / cm<sup>2</sup>. Two preparations were used, one containing the active ingredient (*Hypericum perforatum*), the other being the placebo.

**Results:** No statistically significant differences were found in the tested skin parameters (erythema, skin moisture, melanin and TEWL) between group that used Saint John`s Wort formulation in comparison with the placebo group.

**Conclusions:** Our research has shown that Saint John`s Wort has no protective effects on skin function disorders caused by the exposure to UV radiation and that there is a need for further research in the future on this topic.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**Ime i prezime:** Helena Šušak

**Datum i mjesto rođenja:** 3. kolovoza 1994., Split, Hrvatska

**Državljanstvo:** hrvatsko

**Adresa stanovanja:** Palmotićeveva 4, 21 000 Split, Hrvatska

**E-mail:** helena.susak@gmail.com

**Obrazovanje:**

2001.-2009. Osnovna škola Lučac, Split

2009.-2013. Prva jezična gimnazija, Split

2013.-2019. Medicinski fakultet u Splitu

**Znanja i vještine:**

Aktivno služenje engleskim jezikom

Aktivno služenje njemačkim jezikom

Vozačka dozvola B kategorije

**Ostale aktivnosti:**

2013.-2019. Članica udruge CroMSIC (Hrvatska udruga studenata medicine)

2018. Profesionalna studentska razmjena u Portugalu (odjel infektologije, Coimbra)