

Priprava i karakterizacija emolijentnoga gela za pranje i emulzije za njegu kože osoba s atopijskim dermatitisom

Vugrinec, Maja

Professional thesis / Završni specijalistički

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:716192>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET**

Maja Vugrinec

**PRIPRAVA I KARAKTERIZACIJA EMOLIJENTNOGA GELA ZA
PRANJE I EMULZIJE ZA NJEGU KOŽE OSOBA S ATOPIJSKIM
DERMATITISOM**

Specijalistički rad

Zagreb, 2019.

PSS studij: Dermatofarmacija i kozmetologija

Mentor: prof. dr. sc. Jelena Filipović Grčić

Specijalistički rad obranjen je dana 21.11.2019. na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

prof.dr.sc. Jelena Filipović-Grčić

izv.prof.dr.sc. Ivan Pepić

dr.sc. Maja Lusina Kregar, znanstvena suradnica

Rad ima 42 lista.

PREDGOVOR

Ovaj rad izrađen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u sklopu poslijediplomskog specijalističkog studija Dermatofarmacije i kozmetologije pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Jelene Filipović-Grčić. Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Jeleni Filipović-Grčić na stručnoj pomoći i korisnim savjetima pri izradi ovog specijalističkog rada. Zahvaljujem se obitelji i kolegama na razumijevanju i podršci tijekom ostvarivanja ovog cilja.

SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj ovog istraživanja je razviti formulaciju emolijentnoga gela za pranje i emulzije za njegu kože osoba s atopijskim dermatitisom, koji bi sa svojim prirodnim sastavnicama potpomogli terapiji ove bolesti.

MATERIJAL/ ISPITANICI I METODE: Nakon razvoja formulacija, ispitana je njihova djelotvornost na koži obraza osoba s atopijskim dermatitisom u Gradskoj ljekarni Zagreb OJ 13, u Kamenitoj ulici 9 u Zagrebu, pomoću uređaja za analizu kože Multi Skin Test Center MC 1000 i Visiosope kamere ("Courage+Khazaka", Köln, Njemačka) sa sondama koje mjere transepidermalni gubitak vode (TEWL-metar) i hidrataciju kože (korneometar). Ispitivanje je trajalo 24 sata, a provedeno je na ukupno 10 ispitanika s dijagnozom atopijskog dermatitisa. Parametri transepidermalni gubitak vode i hidratacija izmjereni su na koži oba obraza ispitanika neposredno prije i 24 sata nakon primjene formulacija. Formulacije su primijenjene na jednom obrazu, a drugi obraz je služio kao kontrola.

REZULTATI: Rezultati ovog ispitivanja pokazali su smanjeni transepidermalni gubitak vode i povećanu hidrataciju epidermisa, odnosno poboljšanje epidermalne zaštitne barijere kože nakon primjene formulacija.

ZAKLJUČAK: Pravilnom njegom kože moguće je ublažiti glavne simptome atopijskog dermatitisa kao što su suhoća, iritacija, svrbež, upala i infekcija.

SUMMARY

OBJECTIVES: The aim of this research is to develop a formulation for emollient shower gel and emulsion for people with atopic dermatitis that would improve the treatment of this disease with their natural components.

MATERIAL/PATIENTS AND METHODS: After the development of formulations, their effectiveness was evaluated on the cheek of patients with atopic dermatitis in Zagreb City Pharmacy, in Kamenita Street 9 in Zagreb, using a skin tester Multi Skin Test Center MC 1000 and Visiosope Camera (Courage + Khazaka, Köln, Germany) with probes that measure transepidermal water loss (TEWL-meter) and skin hydration (corneometers). The research lasted for 24 hours and included ten atopic dermatitis diagnosed patients. The transepidermal water loss and hydration parameters were measured on the skin of both cheeks just before and 24 hours after the application of the formulations. The formulations were applied on one cheek, while the other served as control.

RESULTS: The results of this study showed reduced transepidermal water loss, increased epidermal hydration and improved epidermal skin barrier protection after the application of these formulations.

CONCLUSION: Proper skin care can relieve the main symptoms of atopic dermatitis such as dryness, irritation, itching, inflammation and infection.

SADRŽAJ

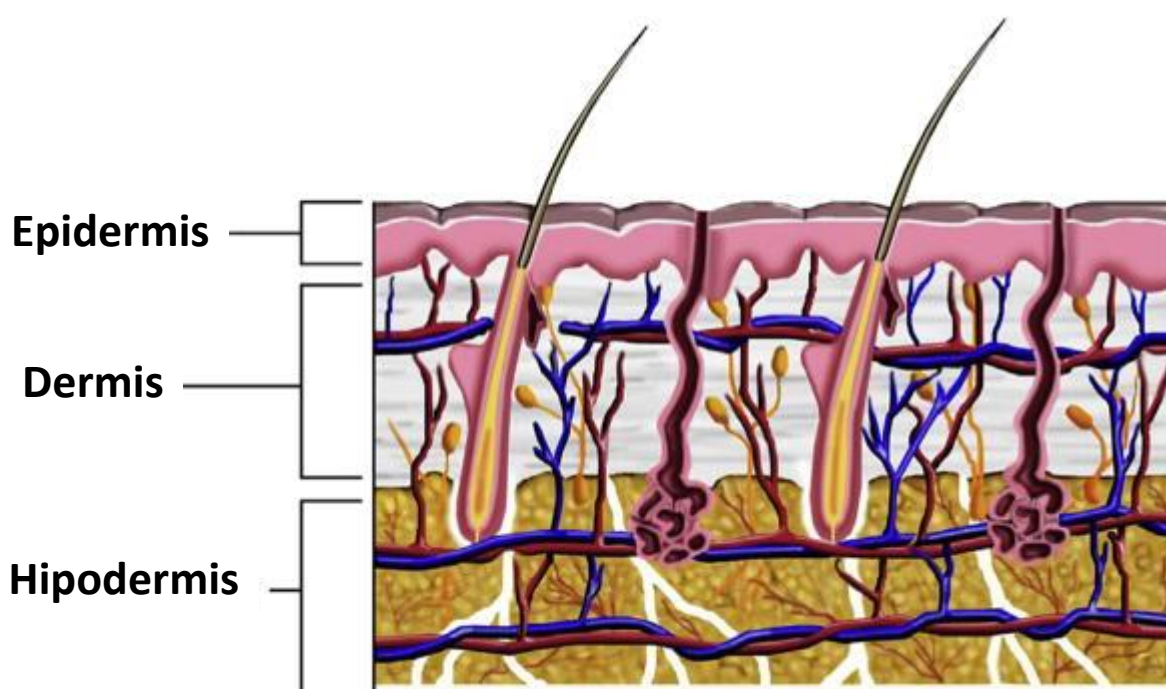
1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	1
1.1. GRAĐA I FUNKCIJA KOŽE.....	1
2.1. ATOPIJSKI DERMATITIS.....	9
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	18
3. MATERIJALI I METODE	19
3.1. MATERIJALI	19
3.1.1. EMOLIJENTNI GEL ZA PRANJE	19
3.1.2. EMULZIJA.....	21
3.2. METODE	25
3.2.1. OPIS PROVEDENOG ISTRAŽIVANJA.....	25
3.2.2. ETIČKO ODOBRENJE I SUGLASNOST ISPITANIKA ZA SUDJELOVANJE.....	25
3.2.3. APARATURA.....	26
3.2.3.1. KORNEOMETAR.....	27
3.2.3.2. TEWL-METAR.....	28
4. REZULTATI	30
5. RASPRAVA	36
6. ZAKLJUČAK	37
7. LITERATURA	38
8. ŽIVOTOPIS	41

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. GRAĐA I FUNKCIJA KOŽE

Koža je najveći organ na tijelu, te je od vitalnog značaja za naše cjelokupno zdravlje. Koža ima više funkcija, a najvažnija je zaštita cijelog organizma i unutarnjih organa od negativnih utjecaja iz okoline, osobito od mehaničkih tj. fizikalnih, kemijskih i bioloških podražaja, te od patogenih mikroorganizama. Koža također sudjeluje u regulaciji tjelesne temperature, homeostaze vode i elektrolita, te ima sekrecijsku funkciju. Dobro je poznata i osjetna funkcija kože (bol, svrbež, dodir i pritisak, vibracije, hladnoća i toplina). Koža stvaranjem melanina štiti DNA stanica od djelovanja ultraljubičastog (UV) zračenja, a Langerhansove stanice i limfociti imaju bitnu ulogu u imunskoj funkciji kože. Poremećaji strukture i funkcije kože odražavaju se u obliku raznih stanja i bolesti kože (dermatoze) (1-3).

Kožu čine tri glavna strukturna sloja: hipodermis, dermis i epidermis (slika 1.). Epidermis čine 4 sloja: temeljni sloj (*Stratum basale*; SB), trnasti sloj (*Stratum spinosum*; SS), zrnati sloj (*Stratum granulosum*; SG) i rožnati sloj (*Stratum corneum*; SC) (slika 2.) (4).

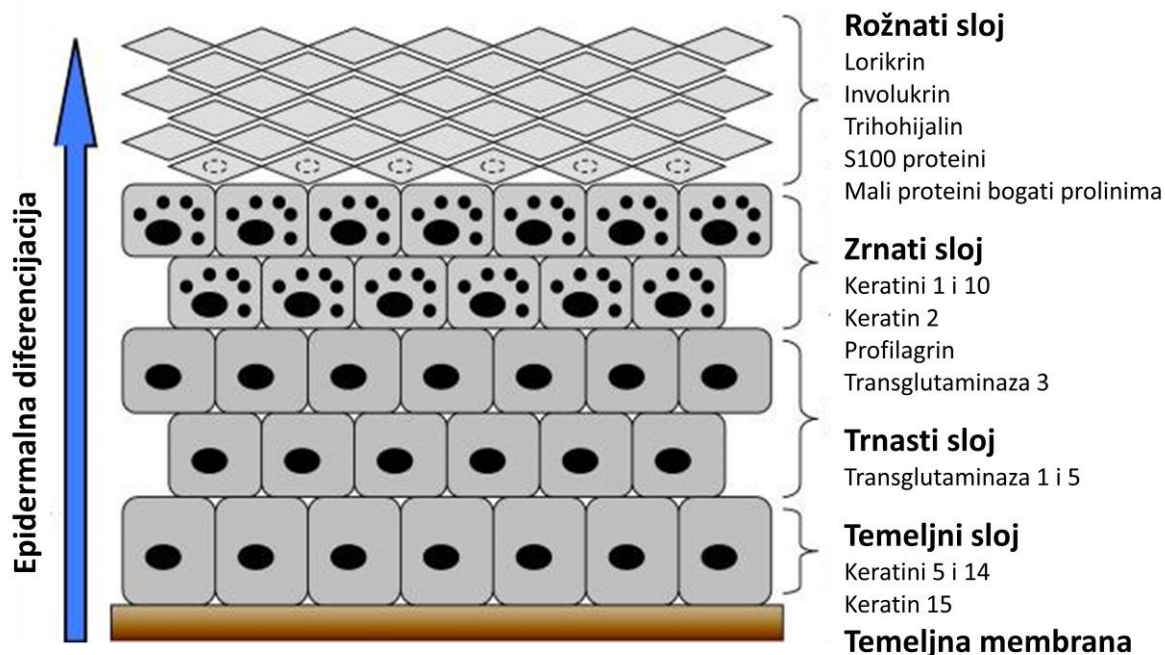


Slika 1. Slojevi kože. Kožu čine tri glavna strukturna sloja: hipodermis, dermis i epidermis.

Prilagođeno prema (5).

ROŽNATI SLOJ, najgornji sloj epidermisa, sadrži **korneocite**, mrtve stanice ispunjene keratinom s čvrsto oroženom ovojnicom, koji su uronjeni u **lipidni matriks**. Zbog takve strukture predstavlja glavnu fizičku i barijeru propusnosti kože (4).

Korneociti nastaju iz keratinocita u vrlo složenom procesu epidermalne diferencijacije (slika 2.), koji uključuje promjene njihove morfologije i strukturne cjelovitosti. Taj proces se naziva keratinizacija ili oroženje. Pri keratinizaciji se matični keratinociti u temeljnom sloju mitotički dijele, te po jedna stanica kći ostaje u tom sloju kao matična stanica, a druga prolazi kroz sve slojeve epidermisa okomito prema površini, mijenjajući pritom svoju morfologiju od ovalne u temeljnom sloju do spljoštene u rožnatom sloju gdje postaju korneociti. Na tom putu stanica na kraju umire i završava kao dio roževine (SC) čiji se najpovršinski sloj ljušti. Fiziološko vrijeme diferencijacije keratinocita od temeljnog do rožnatog sloja iznosi 28 dana. Nepravilnosti u procesu keratinizacije epidermisa utječu na formiranje rožnatog sloja a time i kožne barijere te najčešće rezultiraju propusnijom barijerom i različitim kožnim bolestima i poremećajima kao što su atopijski dermatitis i psorijaza (1, 4, 6).



Slika 2. Slojevi epidermisa. Epidermalna diferencijacija. Svaka faza epidermalne diferencijacije karakterizirana je ekspresijom specifičnih proteina. Manje crne točke u stanicama zrnatog sloja predstavljaju keratohijalinske granule. Prilagođeno prema (7).

Lipidi u rožnatom sloju su složeni u obliku lipidnih dvoslojeva, a čine ih uglavnom ceramidi, kolesterol i slobodne masne kiseline. Odgovorni su za zaštitnu barijernu funkciju kože. Reguliraju gubitak i primanje tekućine i zato imaju ključnu ulogu u osiguravanju vlage koja je neophodna za funkcioniranje epidermalne barijere. Poremećaj sinteze lipida i/ili njihovo osiromašivanje u SC-u (često pranje, primjena agresivnih sredstava za pranje, rukovanje s organskim otapalima, itd.) dovodi do oštećenja barijerne funkcije kože (4).

Lipidi se prenose u prostor između korneocita pomoću lamelarnih tjelešaca ili lamelarnih granula. Keratinociti tijekom diferencijacije formiraju lamelarna tjelešca ili lamelarne granule, u kojima se sintetiziraju lipidi, koji su prekursori lipidnih dvoslojeva rožnatog sloja epidermisa. Kad keratinociti proliferiraju do rožnatog sloja, polarni lipidi se metaboliziraju pomoću specifičnih enzima unutar lamelarnih granula u nepolarne lipide, koji se egzocitozom izbacuju u međustanični prostor. Enzimi glukozilceramidaze pretvaraju glukozil-ceramide u ceramide, enzimi sfingomijelinaze pretvaraju sfingomijeline u ceramide, enzimi fosfolipaze pretvaraju fosfolipide u slobodne masne kiseline i glicerol, a enzimi sterol-sulfataze pretvaraju kolesterol-sulfate u kolesterol (4, 8).

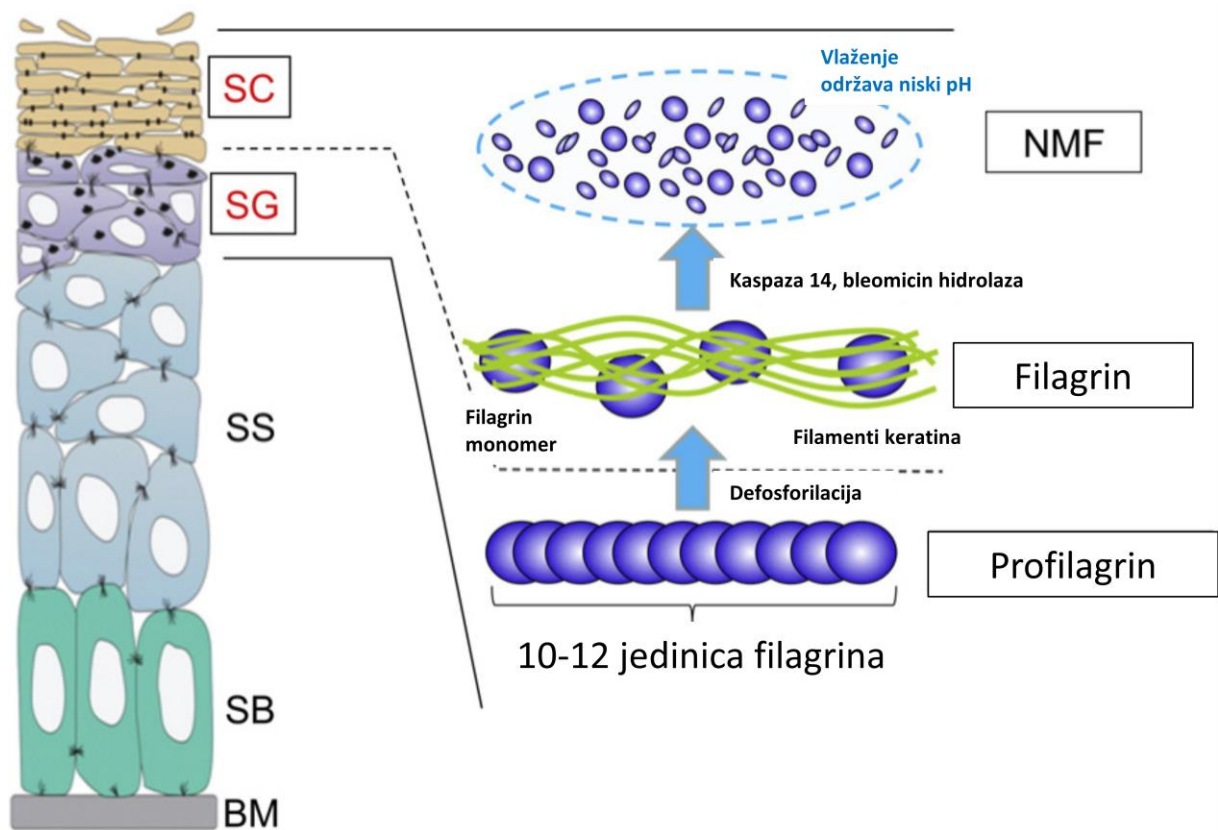
CERAMIDI (CER) su najzastupljeniji lipidi (40-50 %) u rožnatom sloju epidermisa, te zbog toga imaju značajnu ulogu u održavanju barijerne funkcije kože. Ceramidi su strukturno heterogena i složena skupina koji sadrže baze sfingozina [sfingozin (S), fitosfingozin (P) ili 6-hidroksisfingozin (H)] amidno povezane s dugačkim lancima nehidroksi (N) ili α -hidroksi (A) masnih kiselina. U ljudskom SC-u identificirano je 12 različitih klasa CER. Acilceramidi CER [EOS], CER [EOP], CER [EOD] i CER [EOH] imaju jedinstvenu strukturu jer sadrže linolensku kiselinu (LA) povezanu s ω -hidroksi masnom kiselinom. Ti ceramidi se, sa svojim ω -hidroksi skupinama, kovalentno vežu s proteinima orožene ovojnice, posebice sa involucrinom, čineći tako lipidnu ovojnicu korneocita. Nedostatak esencijalnih masnih kiselina tj. linolenske kiseline u CER [EOS] i CER [EOP] dovodi do poremećaja zaštitne barijere epidermisa (4).

Promjene na ceramidima ili njihov gubitak uzrokuju povećanu permeabilnosti rožnatog sloja kože (8) i povećano ljuštenje površinskog sloja (deskvamacija korneocita) što dovodi do visokog transepidermalnog gubitka vode (TEWL). Koža postaje suha i osjetljiva. Stoga je kod dehidrirane kože najvažnija zadaća obnoviti hidrolipidnu barijeru epidermisa (4).

Većina topikalnih pripravaka, namjenjeni za njegu kože kod atopijskog dermatitisa, nastoje poboljšati epidermalnu zaštitnu barijeru kože nadopunjavanjem lipida jer se pokazalo da su ceramidi odsutni iz atopične kože. Brojne studije ukazuju na učinkovitost tih pripravaka kod atopijskog dermatitisa, ali i drugih bolesti, povezanih s oštećenom epidermalnom barijerom kože. Takvi pripravci mogu poboljšati simptome atopijskog dermatitisa, te smanjiti upotrebu topikalnih glukokortikoida, koje imaju brojne nuspojave poput atrofije ili supresije osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (HPA osi) (8, 9).

Održavanje optimalne razine hidratacije u SC-u, osim o lipidima, u velikoj mjeri ovisi i o prirodnim faktorima ovlaživanja kože (Natural Moisturising Factors; NMF), koji se nalaze u visokim koncentracijama u korneocitima rožnatog sloja epidermisa, a čine ih aminokiseline i njihovi derivati (40 %), uključujući pirolidon-karboksilnu kiselinu (PCA, 12 %), laktati (12 %), urea (7 %) i anorganske soli (18 %). Nastaju razgradnjom **filagrina** (FLG) kako je shematski prikazano na slici 3. Ti higroskopni faktori ovlaživanja vežu vodu, omogućavajući normalnu keratinizaciju i funkcioniranje rožnatog sloja epidermisa. Dokazane su smanjene vrijednosti koncentracije NMF-a u SC-u u pacijenata s različitim stupnjevima atopijskog dermatitisa (10).

Humektansi tj. ovlaživači u lokalnim pripravcima mogu poboljšati funkciju epidermalne barijere, te produžiti faze bez simptoma bolesti atopijskog dermatitisa (11).

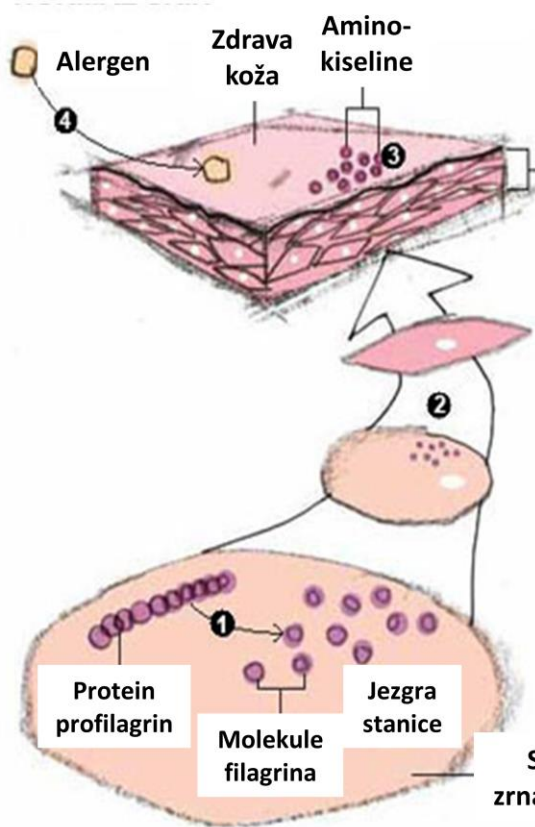


Slika 3. Shematski prikaz nastajanja NMF-a iz filagrina. Monomeri FLG razgrađuju se pomoću enzima bleomicin hidrolaze u produkte koji čine prirodni faktor ovlaživanja, važan za održavanje hidratacije kože i niskog pH. Prilagođeno prema (12).

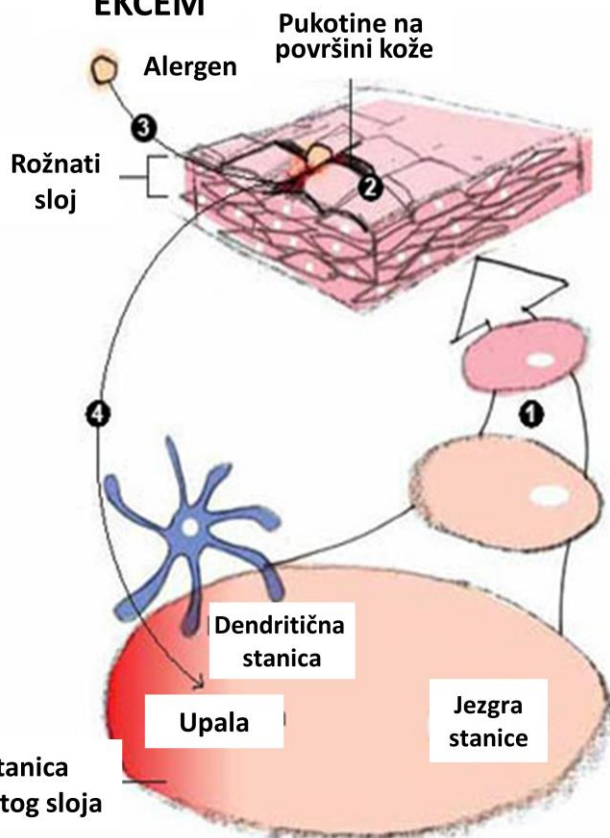
FILAGRIN ("FILament AGregating pRoteIN") je histidinom bogati protein koji veže keratin, sintetizira se u keratohijalinskim granulama. Ima važnu ulogu u održavanju hidratacije kože očuvanjem integriteta SC-a i proizvodnje NMF-a. U zrnatom sloju, molekula pro-filagrina se defosforilira pod utjecajem raznih fosfataza i proteolitički odcjepljuje uz djelovanje proteaza do konačno 10-12 funkcionalnih monomera filagrina (slika 3.). Keratinociti tijekom procesa terminalne diferencijacije, proliferiraju od zrnatog do konačnog, rožnatog sloja i mijenjaju svoju morfologiju tako što nastali filagrin veže filamente keratina, što rezultira urušavanjem citoskeleta keratinocita, te postaju spljošteni korneociti. Keratinski filamenta vezani s filagrinom, uronjeni u ovojnici korneocita, umreženi su s dezmosomima, koji su povezani s keratinskim filamentima susjednih korneocita što omogućava snažnu međusobnu povezanost korneocita. Stoga filagrin pridonosi čvrstoći zaštitne barijere SC-a i bez njega je cjelovitost i kohezivnost keratinocita oslabljena i postaje "propusna", što omogućuje povećanu perkutanu penetraciju i povećan gubitak transepidermalne vode (Transepidermal Water Loss; TEWL) kroz keratinocite. U rožnatom sloju dio filagrina se odvaja od filamenta keratina deimidacijom, te se razgrađuje u smjesu slobodnih aminokiselina (alanin, histidin, glutamin i dr.) i njihovih derivata, kao što su trans-urokanska kiselina (urocanic acid; UCA) i pirolidin karboksilna kiselina (pyrrolidone carboxylic acid; PCA), koji su zajednički poznati kao prirodni faktori ovlaživanja kože (Natural Moisturising Factors; NMF) (13).

Nedostatak filagrina javlja se kod mutacije gena za FLG i dovodi do kompromitiranog integriteta SC-a i smanjene razine NMF-a, što rezultira dehidratacijom kože zbog smanjene sposobnosti korneocita da apsorbiraju i zadrže vodu na razinama nužnim za normalnu fiziološku funkciju (slika 4.). Smanjeni sadržaj vode stvara strmi gradijent vode u gornjim slojevima SC-a, što dodatno povećava gubitak i isparavanje vode (13).

NORMALNA KOŽA



EKCEM



Slika 4. Normalna koža (lijevo):

1. U zrnatom sloju normalne kože, veliki protein profilagrin se defosforilizira i enzimski razgradi na 10–12 manjih molekula filagrina.
2. Kako keratinociti tijekom procesa terminalne diferencijacije proliferiraju od zrnatog do konačnog, rožnatog sloja epidermisa, mijenjaju svoju morfologiju, tako što nastali filagrin veže filamente keratina, što rezultira urušavanjem citoskeleta keratinocita, pa oni postaju spljošteni korneociti.
3. U rožnatom sloju, filagrin se razgrađuje u aminokiseline neophodne za održavanje vlage u vanjskim slojevima kože.
4. Nepromijenjena kožna barijera zdrave kože zadržava alergene, patogene (bakterije i viruse) i kemijske iritanse izvan tijela.

Ekcem (desno):

1. Mutacije u genu za FLG znatno smanjuju količinu filagrina u koži ili dovode do njegove potpune odsutnosti,
2. rezultirajući urušavanjem kožne barijere
3. zbog čega su donji, vijabilni slojevi epidermisa, izloženi alergenima, što uzrokuje ekcem.
4. Jednom kad strani materijal, kao što je alergen, prođe kroz oštećenu kožnu barijeru, uočava ga stanica imunskog sustava, te se pokreću upalne alergijske reakcije.

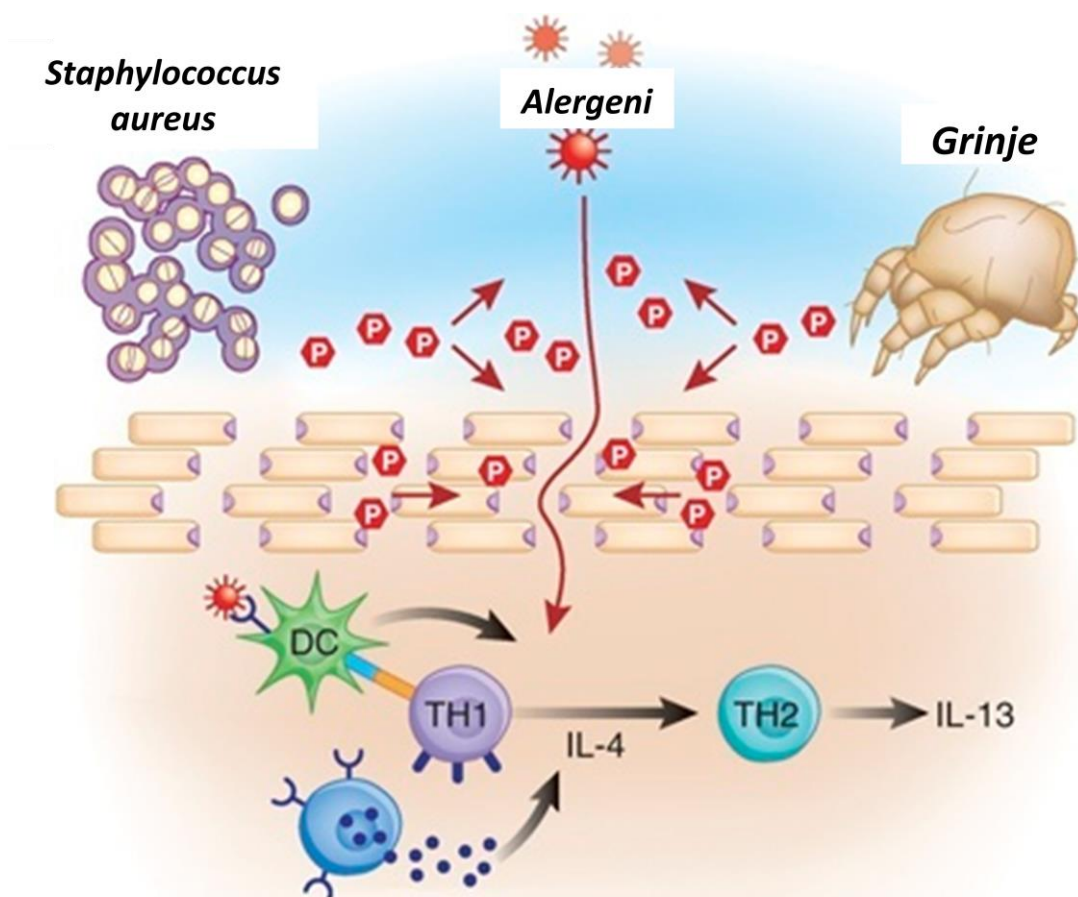
Prilagođeno prema (14).

1.2. ATOPIJSKI DERMATITIS

Atopijski dermatitis (AD) je kronično recidivirajuća upalna kožna bolest, uvjetovana genetskom predispozicijom, obilježena suhoćom kože, svrbežom i tipičnom kliničkom slikom ovisnom o dobi bolesnika, te je često udružena s drugim atopijskim bolestima, kao što su astma i/ili alergijski rinitis. Razlikujemo intrinzični tip (nealergijski oblik) bez udruženosti s ostalim alergijskim bolestima i ekstrinzični tip (alergijski oblik) udružen s IgE temeljem genskih razlika i faktora okoliša (3).

Pokazalo se da je bolest u porastu u Europi pa je tako prevalencija AD-a oko 20%. U oko 80% oboljelih bolest se pojavi prije prve godine života, a u oko 2% nakon 20. godine života. Učestalost bolesti u industrijski razvijenim zemljama u stalnom je porastu. U djece je AD najčešća rana, reverzibilna manifestacija atopije, karakterizirana periodičnim pogoršanjima. Oko 40 % djece s AD-om oboli od bronhalne astme u kasnijoj dobi (1).

Uzroci nastanka ove bolesti još uvijek u potpunosti nisu poznati. Kronično stanje AD-a rezultat je složenog međudjelovanja između abnormalnosti nekoliko funkcija epidermalne barijere (slika 5.), od kojih većina uključuje primarno stratum corneum (SC) i genetski različitog imunološkog odgovora na razne egzogene utjecaje kao što su alergeni, iritansi, mikroorganizmi, klimatske promjene i psihološki stres. Najnoviji znanstveni dokazi o uzrocima nastanka AD-a omogućuju bolje razumijevanje bolesti i prikladniju upotrebu terapije (13, 9).



Slika 5. U osoba sa atopijskim dermatitisom oštećena je funkcija epidermalne barijere, što omogućuje lakše prodiranje alergena u kožu i olakšava njihovu interakciju s lokalnim stanicama antigena i imunskim efektorskim stanicama. Prilagođeno prema (15).

Čimbenici koji dovode do oštećenja barijerne funkcije kože su uglavnom deficit filagrina, povećana aktivnost serinskih proteaza i smanjena ukupna koncentracija lipida SC-a, posebice frakcija ceramida (6, 8, 13).

Brojna istraživanja su pokazala da **nedostatak filagrina** može biti glavni uzrok nedostatka zaštitne barijerne funkcije SC-a kod osoba sa atopijskim dermatitisom (AD) (slika 4.). Poremećaji zaštitne barijere SC-a povezani s nedostatkom filagrina u AD-u uključuju smanjenu čvrstoću/ integritet zaštitne barijere SC-a, povećanu perkutanu apsorpciju, povećanu dehidraciju, povećanu (alkalnu) pH vrijednost kože, smanjenu sposobnost puferiranja, povećanu aktivnost serinskih proteaza i smanjenu antimikrobnu funkciju (13).

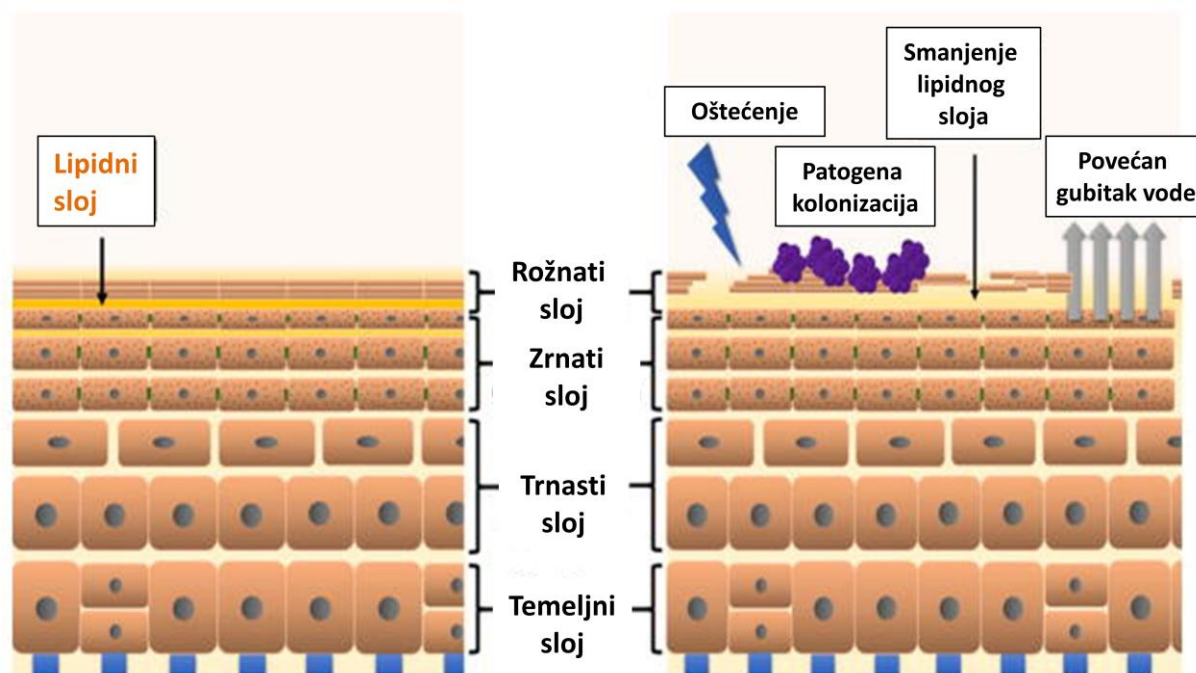
Kod AD-a promjene u osnovnoj pH vrijednosti kože i sposobnosti puferiranja također su jedna od posljedica nedostataka filagrina tj. NMF-a, a posebno t-UCA, koji je endogeni kiseli agens SC-a. Kod AD-a pH kože je alkalniji od zdrave kože (pH=4,0 do 6,0) zbog smanjene proizvodnje kiselih metabolita uslijed proteolize FLG. Klinički je dokazano da veća pH vrijednost kože u AD-u korelira s povećanom težinom bolesti. Održavanje pH kože u kiselom području i održavanje inherentnog puferskog kapaciteta je važno jer povećani pH dovodi do **povećane aktivnosti serinskih proteaza (SP)**, povećane osjetljivosti na infekciju, smanjenog lučenja lipida i smanjene funkcije enzima za preradu lipida, koji su štetni za normalnu funkciju kožne barijere (8, 13).

Kolonizacija bakterija *Staphylococcus aureus* u zdravoj ("kiseljoj") koži obično je prolazna jer obrana kože normalno ne dopušta da se *S. aureus* održi kao dio normalne kožne flore. U normalnim uvjetima, bakterije moraju prevladati kisele uvjete i izbjegavati detekciju i obranu imunološkog sustava kako bi preživjeli na koži. Međutim, kada je oštećena barijerna funkcija SC-a i smanjen imunološki odgovor, patogeni organizmi, kao što su *S. aureus* mogu kolonizirati kožu, a ponekad izazvati upalu tj. infekciju (slika 6). *S.aureus* se može izolirati u 90 % odraslih osoba s AD-om, a samo u 5% ispitanika sa zdravom kožom. S obzirom da kod AD-a mutacije u FLG genu rezultiraju smanjenim integritetom SC-a, povećanom perkutanom apsorpcijom, povećanim pH i smanjenim razinama UCA i PCA, smatra se da izmijenjeni filagrin može imati značajnu ulogu u povećanoj kolonizaciji i infekciji patogena, kao što je *S. aureus* (13).

Neki stresori mogu pogoršati stanje AD-a izazivajući abnormalnost barijere. Tako na primjer upotreba neutralno-alkalnih sapuna, koji su poznati kao egzogeni stresori kliničkog AD-a, može uzrokovati povećanje pH i aktivnost SP-a. Stoga se, osobama s atopijskim dermatitisom preporuča izbjegavanje neutralno-alkalnih sapuna i ostalih sredstava za pranje koji povisuju pH, te iritiraju kožu (6).

Isto tako, dugotrajni psihološki stres pogoršava funkciju barijere propusnosti kod ljudi i može biti uzrok rezistencije na terapiju. Psihički stres inducira povećanje endogenih glukokortikoida, te posljedično utječe na homeostazu barijere propusnosti, SC integritet i epidermalnu antimikrobnu zaštitu. Pretpostavljeni mehanizam za negativne učinke psihološkog stresa je inhibicija sinteze ključnih epidermalnih lipida posredstvom glukokortikoida: ceramida, kolesterola i slobodnih masnih kiselina. Dokazano je da se topikalnom primjenom pripravaka koji sadrže te tri vrste lipida u ekvimolarnom udjelu mogu normalizirati funkcije barijere, čak i tijekom stalnog psihološkog stresa ili glukokortikoidne terapije (6).

Etiologija atopijskog dermatitisa vrlo često obuhvaća **poremećaje sinteze integralnih barijernih lipida**, čime je ugrožena kohezija i integritet rožnatog sloja, što dovodi do lakšeg prodora antigena i veće mogućnosti od infekcije, te do povećanog gubitka TEWL iz epidermisa (slika 6). Koža postaje suha, dehidrirana i osjetljiva na najmanje iritacije (8).



Slika 6. Funkcija barijere kod zdrave i atopične kože. Kod atopijskog dermatitisa povećani gubitak vode rezultat je gubitka lipidnog sloja koji okružuje korneocite u rožnatom sloju, koji djeluju kao prepreka za tvari koje su topljive u vodi. Patogeni kao što je *S. aureus* mogu lakše kolonizirati atopičnu kožu. Prilagođeno prema (16).

Brojne studije su pokazale da je nadomještanje lipida u SC-u nužno u terapiji gotovo svih kožnih oboljenja, a posebno atopijskog dermatitisa (4).

U bolesnika s AD-om, postoji također dokazani poremećaj metabolizma masnih kiselina: snižene su gamalinolenska (GLA) i di-gamalinolenska kiselina(DGLA). GLA je jako važna za sintezu strukturalnih lipida kože i djeluje kao protuupalni medijator (sinteza prostaglandina). Prirodni izvor GLA su biljna ulja kao npr. ulje noćurka i jojobe, te ekstrakt sjemenki ječma (3).

Dugotrajna izloženost suhom zraku, npr. tijekom zime u zatvorenim prostorima koji se griju, poznat je čimbenik rizika za AD. Kontinuirano smanjenje relativne vlažnosti okoliša utječe na proteolizu FLG, na način da smanjuje preostali FLG u bolesnika. Stoga, u takvim uvjetima, se dodatno pogoršava funkcija barijere propusnosti, te se ubrzava transepidermalni gubitak vode preko defektnog SC-a, stimulirajući signalizaciju upalnih citokina (6, 10).

Jedan od glavnih uzroka AD-a je i deregulacija imunološkog sustava. Osobe s AD-om mogu imati alergijske poremećaje. Neke osobe imaju nasljednu sklonost proizvodnji prekomjernih protutijela kao što su imunoglobulini E (IgE), kao reakciju na veliki broj različitih podražaja. Bolest nastaje kao **alergijska reakcija tipa I** na više inhalacijskih i nutritivnih alergena (posredstvom IgE, čija je vrijednost povišena u većini oboljelih), no AD je i posljedica **tipa IV. imunološkog odgovora** (alergijske reakcije preosjetljivosti na kontaktne alergene-stanična imunost) (1).

Alergeni su tvari koje izazivaju alergijske reakcije, a po građi su proteini, polisaharidi i hapteni. U organizam dolaze inhalacijom, hranom ili ubodom kukaca. Najčešći nutritivni alergeni su kravlje mlijeko, jaja, kikiriki, soja, brašno i riba, a od inhalacijskih su peludi korova, stabala i trava, te prašina i grinje. Mnoga stanja mogu dovesti do pogoršanja AD-a kao što su psihički stres, promjene temperature ili vlažnosti zraka, bakterijske infekcije, dodir s nadražujućom odjećom (npr. vunom) (3).

Karakteristične su značajke AD-a svrbež, egzematoidne promjene kože u dojenčadi i male djece pretežno na licu i ekstenzornim stranama udova te u odraslih pojačan crtež kože (lihenifikacija) pregiba, pozitivna osobna ili porodična anamneza za atopiju te kronično-recidivirajući tijek bolesti (1).

Češanje i svrbež već iritirane kože kojoj je narušena barijera izazivaju dodatne krastice i oštećenja koji se lako mogu pretvoriti u bakterijsku infekciju (*S. aureus*), gljivične infekcije (trihofitija, kandidijaza), virusne infekcije (*Herpes simplex*) i kontaktni alergijski dermatitis (3).

Dijagnoza AD-a se temelji na anamnezi (postojanje osobne atopijske manifestacije ili u porodici), karakterističnoj kliničkoj slici i pozitivnim alergološkim testovima. U dijagnozi se još uvijek preporučuju kriteriji Hanifina i Rajke iz 1980. godine prema kojima postoje glavni i sporedni kriteriji za dijagnozu atopijskog dermatitisa (1).

Idealna terapija AD-a treba prije svega regenerirati barijernu funkciju kože, ublažiti suhoću, svrbež i iritacije, potaknuti cijeljenje kože, te spriječiti upalu i sekundarnu infekciju. Za liječenje AD-a je neophodna kombinacija lijeka, kozmetičkog pripravka, dodataka prehrani (i pravilne prehrane) te psihološka podrška (9).

Potrebno je ukloniti alergene, npr. kućnu prašinu i grinje (ukloniti tepihe i zavjese), dlaku životinja, perje, određenu hranu (npr. citrusne ili rajčice). Treba izbjegavati klasične sapune (rabiti sredstva za čišćenje kože s pH 5 do 5,5), kemikalije, dim, podražaj odjećom (ukloniti vunu i sintetiku), visoke temperature, suhi zrak (preporučuje se vlažnost zraka u prostoriji barem 55%), lokalne alkoholne pripravke, sportske aktivnosti praćene znojenjem, emocionalni stres, često pranje s posljedičnim odmaščivanjem kože, kupanje u bazenima s kloriranom vodom (tuširati se odmah nakon takva kupanja uz primjenu emolijensa) (1).

U akutnoj fazi bolesti kratkotrajno se primjenjuju lokalni kortikosteroidi, uz oprez jer se za lice, u područje spolovila i pregiba preporučuju samo kratkotrajno niskopotentni kortikosteroidi. Nakon postignutog terapijskog učinka što prije treba preći na emolijentna sredstva, a u slučaju potrebe može se prijeći na lokalnu primjenu kortikosteroidnih pripravaka dvaput na tjedan. U subakutnoj fazi daju se blage antiflogistične kreme i meke paste, a u kroničnom stadiju masti tipa V/U i katranski preparati. Katranski preparati koji imaju antipruritičko i antiinflamatorno djelovanje primjenjuju se ponekad, ali rijetko zbog mogućih popratnih nuspojava (folikulitis, fotosenzibilnost, karcinogeno djelovanje), zbog neugodna mirisa i bojenja odjeće. Kod hiperkeratoza primjenjuju se keratolitici i rehidrirajuće masti, obično uz okluziju (1).

U sustavnoj terapiji bolesti primjenjuju se ponajprije antihistaminici (npr. loratadin, desloratadin, cetirizin, bilastin i dr.), ponekad kratkotrajno sustavni kortikosteroidi, triciklički antidepresivi (doksepin, amitriptilin) i dr. (1).

Važna je i fototerapija koja obično daje dobre rezultate. Uspješno se primjenjuju različiti oblici fototerapije, osobito u akutnih pogoršanja (UVA1, UVA+UVB, UVB, PUVA, PUVA-bath, PUVA-cream) (1).

Sustavni glukokortikoidi primjenjuju se samo u akutnim pogoršanjima, najčešće kao kratkotrajna oralna primjena glukokortikoida (oko 40mg prednizolona na dan tjedan dana do dva tjedna) uz oprez zbog mogućeg *rebound* fenomena (nakon naglog izostavljanja sustavnih glukokortikosteroida može nastati pogoršanje promjena kože). U rezistentnih oblika bolesti moguća je primjena ciklosporina (selektivni inhibitor sinteze IL-2), mikofenolatmofetila (oralno, u dozi od 2 g na dan) kao monoterapija, azatioprin, talidomid i dr. Danas je dostupan i biološki lijek, monoklonalno protutijelo, inhibitor IL4, dupilumab (1).

Kod impetiginizacije se primjenjuju sustavni antibiotici (najčešće cefalosporini), kod virusnih komplikacija aciklovir, a kod gljivičnih infekcija antimikotici. Od ostalih mogućnosti daje se i kapsaicin (0,0025 % krema) koji djeluje na oslobađanje supstancije P i pogodan je kao antipruritik. Pozitivnim se pokazao i utjecaj boravka u planinama (iznad 1500 m), boravka na moru i izlaganja Suncu (heliomarinoterapija) (1).

Pravilnom njegom kože mogu se ublažiti glavni simptomi atopijskog dermatitisa kao što su suhoća, iritacija, svrbež, upala i infekcija. Pravilna njega kože podrazumjeva redovito pranje i nakon toga (unutar tri minute) primjenu neutralnih preparata za njegu kože (emolijensa) (11, 9).

Prilikom pranja, osobama s atopijskim dematitisom, kojima je koža već suha, dehidrirana i iziritirana, preporuča se izbjegavanje sapuna sa agresivnim i iritabilnim surfaktantima (kao npr. natrijev lauril sulfat), koji se nalaze u većini komercijalnih proizvoda za čišćenje, i ostalih sredstava za pranje kože koja povisuju pH i iritiraju kožu, te umjesto njih koristiti emolijentne gelove za pranje ili syndete. Poznato je da površinski aktivne tvari (surfaktanti, tenzidi) u sredstvima za čišćenje, kao npr. kod sapuna, mogu uzrokovati oštećenja na proteinima i lipidima kože, što dovodi do suhoće, oštećenja barijere, iritacije i svrbeži. Stoga, da bi se izbjegla takva oštećenja dodaju se emolijensi u sredstva za pranje. Emolijensi, kao što su okluzivi, kožni lipidi, ulja (npr. biljno ulje sjemenki jojobe) i humektansi (npr. glicerol) prilikom pranja smanjuju štetne interakcije između surfaktanata i proteina i lipida kože, čime se smanjuje oštećenje barijere kože, te se poboljšava hidratacija kože i obnavljaju kožni lipidi izgubljeni tijekom pranja (17).

Dok su svi surfaktanti u određenoj mjeri u interakciji s lipidima, njihova interakcija s proteinima može značajno varirati, ovisno o prirodi djelovanja njihove glavne skupine. Istraživanja su pokazala da tenzidi koji uzrokuju značajne iritacije kože snažno reagiraju s proteinima kože. Sklonost vezanju na proteine varira kako slijedi: anionski tenzidi (natrijev lauril sulfat (SLS) ili natrijev laurat > monoalkil fosfat > natrij kokoil izetionat) > amfoterni surfaktanti > neionski surfaktanti. Isto tako su nekoliko surfaktanata i smjese surfaktanata identificirani kao blage ("manje iritirajuće") površinski aktivne tvari zbog njihove smanjene interakcije s proteinima kože. Surfaktanti koji minimalno ulaze u interakcije i s lipidima i s proteinima kože osobito su blagi (17).

Još jedan faktor koji može pogoršati suhoću induciranu površinski aktivnom tvari je pH sredstva za čišćenje. Najnovija istraživanja pokazuju da visoki pH (npr. kod sapuna pH 10), čak i u odsutnosti surfaktanata, može povećati oticanje SC-a i mijenjati rigidnost lipida, što ukazuje na to da sredstva za čišćenje s neutralnim (npr. syndet pH 7) ili kiselim pH, blizu SC (normalni pH 5,5), mogu biti manje štetni za kožu (17).

Njega kože, osim pranja uključuje i primjenu neutralnih preparata (emolijensa) zbog suzbijanja suhoće i poboljšanja hidratacije kože (9).

Emolijentni pripravci pokazali su se kao jedna od mogućnosti liječenja atopijskog dermatitisa, pogotovo kada se radi o regeneraciji zaštitne barijere kože (slika 7). Kozmetika namjenjena atopičarima mora osiguravati snažnu zaštitu, djelovati na povišenu hidrataciju kože, te smanjiti transepidermalni gubitak vode u epidermisu. Stvarajući pozitivnu okluziju, emolijensi mogu ublažiti suhoću, svrbež i osjećaj zategnutosti kože, te smanjiti izloženost iritansima iz okoline. Redovitom njihovom primjenom produljuju se faze bez simptoma bolesti i smanjuje se potreba primjene lokalnih kortikosteroida (6, 18).

Djelatne tvari kozmetike za atopičnu kožu uglavnom sadrže tradicionalno poznate fitoekstrakte s protuupalnim, antiiritabilnim i regenerirajućim učincima. Aktivni sastojci koji su se pokazali učinkovitima za tu namjenu svakako su ekstrakt sjemenki zobi, ceramidi, urea, dekspantenol, omega masne kiseline. Što je stupanj suhoće kože veći, navedene je preparate uputno češće primjenjivati (3, 11, 18).

Ovlaživači (humektansi) u pripravcima za lokalnu primjenu povećavaju sadržaj vode u SC-u, tako što ju navlače i vežu, te su takvi proizvodi često učinkovitiji od onih bez ovlaživača u liječenju poremećaja suhe kože. Voda je važna za održavanje elastičnosti kože (19, 20). Stoga su prirodni faktori ovlaživanja, (Natural Moisturising Factors; NMF), kao npr. urea, važni za funkciju SC-a, jer osiguravaju zadržavanje vlage, održavaju kiselinski pH i puferiraju kapacitet SC-a, osiguravaju odgovarajuće epidermalno sazrijevanje i uklanjanje crvenila, te smanjuju patogenu kolonizaciju bakterija. Kada se smanji njihova koncentracija u SC-u, sama voda u proizvodima ne može vratiti elastičnost (11).

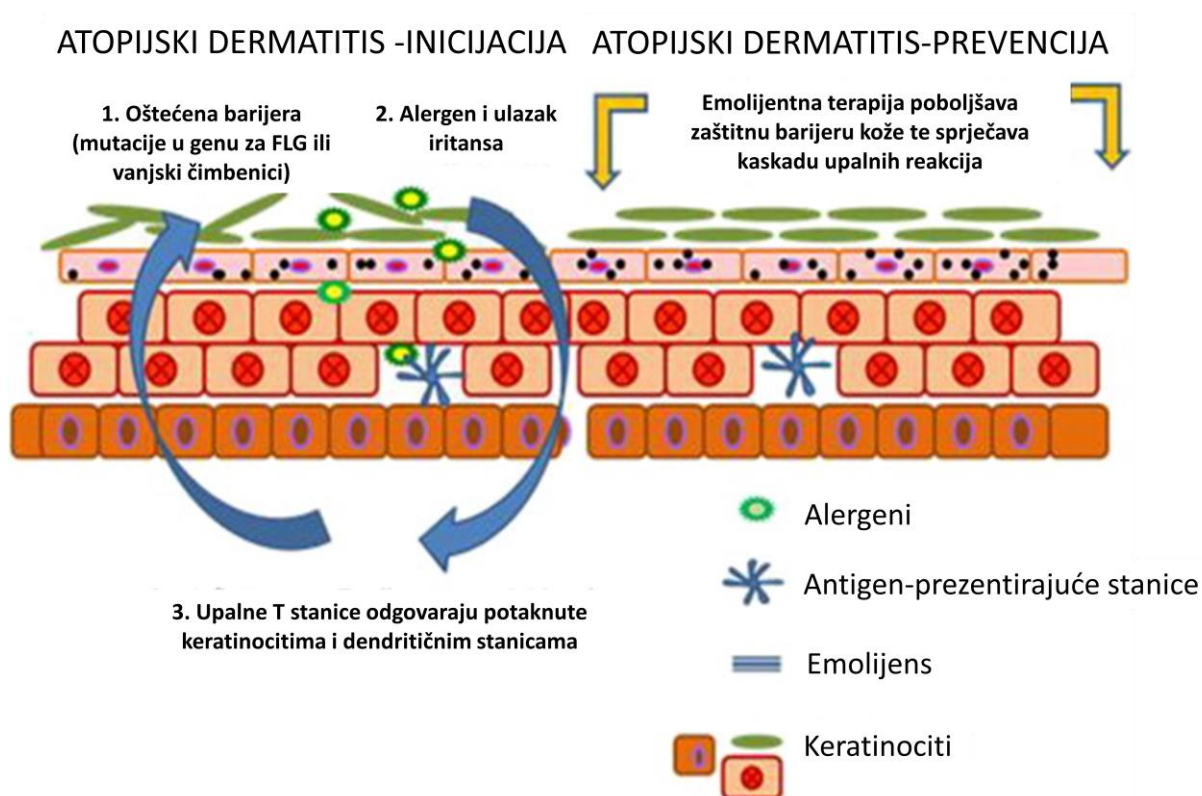
Brojne studije pokazuju kako lokalna primjena lipida može poboljšati oštećenu epidermalnu zaštitnu barijeru kože. U tu svrhu, mogu se koristiti nefiziološki i fiziološki lipidi (8).

Nefiziološki lipidi, kao na primjer lanolin, ne ulaze u sekretoni put lamelnog tijela nego ispunjavaju izvanstanični prostor rožnatog sloja i tako inhibiraju kretanje vode i elektrolita. Lokalnom primjenom nefizioloških lipida može se vrlo brzo obnoviti epidermalna barijera kože, ali isto tako mogu i inhibirati normalni mehanizmi za popravak propusnosti zaštitne barijere. Zato ih je u pripravcima najbolje kombinirati s **fiziološkim lipidima**, koji su normalno prisutni u lamelarnim tjelešcima.

Istraživanja su pokazala da odgovarajući omjer fizioloških lipida koje sadrže kolesterol, ceramide i masne kiseline mogu poboljšati homeostazu barijerne propusnosti. Za razliku od ne-fizioloških lipida, ti se lipidi transportiraju preko rožnatog sloja u zrnati sloj, gdje se miješaju s endogenim lipidima. Isto tako, najbolje se pokazala mješavina fizioloških i nefizioloških lipida, jer nefiziološki lipidi,

osiguravaju trenutnu djelomičnu obnovu zaštitne epidermlane barijere, dok djelovanje fizioloških lipida kasni (8).

U određenim bolestima, u kojima je određeni tip lipida smanjen, preporuča se primjena mješavina fizioloških lipida u kojima dominira tip lipida koji nedostaje. Na primjer, kod atopijskog dermatitisa, korisna je mješavina lipida u kojoj dominiraju ceramidi (slika 7) (8).



Slika 7. Primjena emolijentne terapije kod atopijskog dermatitisa poboljšava zaštitnu barijeru kože i tako sprječava kaskadu upalnih reakcija. Prilagođeno prema (21).

2.CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je razviti formulaciju emolijentnoga gela za pranje i emulzije za njegu kože osoba s atopijskim dermatitisom, koji bi sa svojim, ciljano odabranim prirodnim sastavnicama potpomogli terapiji ove bolesti te ispitati njihov učinak na transepidermalni gubitak vode i hidrataciju kože tijekom 24 sata.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI

3.1.1. EMOLIJENTNI GEL ZA PRANJE

Tablica 1. Sastojci potrebni za pripravu gela za pranje.

Kvalitativni sastojci formulacije:
Pročišćena voda (INCI: Aqua)
Lauroat (INCI: Sodium Lauroyl Oat Amino Acids)
Glicerol (INCI: Glycerin)
Biljno ulje sjemenki jojobe (INCI: Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil)
Ekstrakt sjemenki ječma (INCI: Hordeum Vulgare (Barley) Extract)
Dekspantenol (INCI: Panthenol)
Ksantanska guma (INCI: Xanthomonas Campestris (Xanthan) gum)

Svi navedeni materijali nabavljeni su od Kemig d.o.o. (Hrvatska) i upotrijebljeni kako su dobiveni.

Gel je izrađen u staklenoj čaši. Lauroat je rastrljan s dijelom glicerola, a s drugim dijelom glicerola je rastrljana i izbubrena ksantanska guma. Dekspantenol je otopljen u pročišćenoj vodi, te je otopina dodana izbubrenoj ksantanskoj gumi. Nastalom gelu je potom, uz miješanje, dodano ulje jojobe, ekstrakt sjemenki ječma i lauroat.

Lauroat je anionski surfaktant dobiven iz aminokiselina sjemenki zobi. Ima selektivno i fiziološko djelovanje pri pranju (čišćenju) što znači da uklanja (solubilizira) nečistoće s površine kože a šteti međustanične lipide rožnatog sloja. Zato je prikladan za primjenu u blagim pripravcima za čišćenje osjetljive kože (22).

S obzirom da je nadraživanje od površinski aktivnih tvari sadržanih u deterdžentima česta nuspojava kozmetike, provedeno je istraživanje gdje se usporedio iritirajući i senzibilizirajući potencijal nekoliko surfaktanata u sintetičkim deterdžentima (sindetima) na tržištu. Testiralo se osam surfaktanata različitih tipova (anionski, kationski, amfoterni i neionski) u 105 osoba. Procjena alergijskih reakcija testiranih surfaktanata provedena je u skladu s preporukama Međunarodne kontaktne istraživačke skupine za dermatitis; procjena nadražujuće snage slijedila je izmijenjenu Draizeovu klasifikaciju. Rezultati su pokazali kako su najpovoljnija za kožu dva nova blaga anionska surfaktanta (sodium

cocoyl glutamate i **sodium lauroyl oat amino acids = lauroat**) i jedan amfoterni surfaktant (disodium cocoamphodiacetate) (22).

Glicerol je najjednostavniji alkohol s tri hidroksilne skupine. Lako se upija u kožu i s obzirom na sposobnost vezanja vode održava hidrataciju kože (23).

Ulje jojobe je voštani ester blijedo-zlatne boje, kojeg uglavnom čine zasićene masne kiseline i alkoholi od 20 i 22 ugljikova atoma (24).

Ekstrakt sjemenki ječma je bogat nezasićenim masnim kiselinama i fitosterolima, sadrži dosta vitamina A, vitamina D, vitamina E, veće količine vitamina B12 (koji je inače rijedak u biljkama), pantotenske kiseline, a od minerala sadrži kalij, magnezij, cink, željezo, fosfor, kobalt, fluor i jod. U kozmetičkim pripravcima koristi se za njegu suhe, osjetljive, upaljene kože kojoj je potrebna regeneracija, te za ublažavanje svrbeži. Idealan je u pripravcima za njegu atopične kože. Provedeno je istraživanje koje je pokazalo kako primjena fermentiranog ekstrakta ječma (5%) (Fermented Barley Extract; FBE) suzbija razvoj atopijskog dermatitisa (AD) i sličnih lezija kože u miševa (25).

Pantenol je alkoholni analog pantotenske kiseline (vitamin B₅) i kao takav provitamin vitamina B₅. U organizmu se brzo oksidira u pantotenat (pantotensku kiselinu). Pantenol se javlja u obliku dva enantiomera, D i L. Samo je D-pantenol (dekspantenol) biološki aktivan, ali obje forme imaju hidratantna svojstva. Za kozmetičku upotrebu, pantenol dolazi ili u D obliku ili kao racemat (DL - pantenol). Dekspantenol je visoko viskozna prozirna tekućina. Posjeduje emolijentna i humektantna svojstva. Djeluje protuupalno, uklanja svrbež i potiče epitelizaciju kože (26).

Ksantanska guma je prirodni polisaharid, koji se dobiva fermentacijom šećera u prisutnosti mikroorganizma *Xanthomonas campestris*. Dodaje se u pojedinim kozmetičkim i prehrambenim pripravcima u svrhu postizanja određenih reoloških svojstava, povećanja viskoznosti i stabilnosti emulzija i suspenzija. Ima veliko područje primjene od kozmetičke i prehrambene do naftne i građevinske industrije. Otkrivena je šezdesetih godina, od kada su se razvijali i poboljšavali njezini procesi proizvodnje, a danas je najvažniji mikrobnih hidrokolooid (27).

3.1.2. EMULZIJA

Tablica 2. Materijali potrebni za pripravu emulzije.

Kvalitativni sastojci formulacije:
Pročišćena voda (Aqua)
Lanolin (INCI: Lanolin)
Biljno ulje sjemenki noćurka (INCI: Oenothera Biennis (Evening Primrose) Oil)
Shea maslac (INCI: Butyrospermum Parkii (Shea Butter) Fruit)
Ekstrakt sjemenki ječma (INCI: Hordeum Vulgare (Barley) Extract)
Urea (INCI: Urea)
Dekspantenol (INCI: Panthenol)
Ceramidi (INCI: Water (and) Phospholipids (and) Sphingolipids)

Svi navedeni materijali nabavljeni su od Kemig d.o.o. (Hrvatska) i upotrijebljeni kako su dobiveni.

Emulzija je izrađena u tarioniku. Prvo se dodala masna faza: lanolin, karite maslac, biljno ulje sjemenki noćurka, ekstrakt sjemenki ječma i ceramidi. Zatim se u masnu fazu postepeno uz miješanje dodala vodena faza: pročišćena voda, glicerol, dekspantenol i urea.

Lanolin je jedan od najstarijih i najčešće primjenjivanih emulgatora u farmaciji tijekom dvadesetog stoljeća, pogotovo za njegu kože beba. Lanolin je pročišćeni vosak dobiven s vune ovce *Ovisaries L.*, Bovidae. Dobiva se čišćenjem vune pomoću vruće vode, te dodatnim pročišćavanjima kako bi se uklonile nečistoće. U njemu dominiraju lanolinske kiseline (preko 200 različitih) te lanolinski alkoholi (preko 100 različitih), no od spojeva najviše je **kolesterola** i lanosterola. Alkoholi i kiseline grade estere u lanolinu i smatra se da ih ima više od 10 000 različitih kombinacija. Zbog svojstva vezanja velike količine vode služi kao emulgator za masne podloge, za izradu mnogih ljekovitih masti, osobito onih u kojima su inkorporirane vodene otopine ljekovitih supstancija. On je smeđe-žuta, masna pastozna tvar, a pravi anhidrični lanolin na sebe može vezati trostruku masu vode u odnosu na svoju masu. Postoji i ultrapročišćeni lanolin koji je bijele boje i potpuno je bez mirisa. Emulzije koje radi lanolin su tipa tekućih kristala, odnosno kompleksne, višeslojne emulzije čiji konačni sastav podsjeća na hidrolipidnu barijeru naše kože. U tome i leži tajna jake zaštitne uloge lanolinskih emulzija, koja sprječava gubitak vlage iz kože. Stoga su lanolinski emulzijski sustavi idealni za zaštitu jako suhe i ispucale kože, primjerice ruku i stopala, te njegu kože beba. Lanolin ne ulazi samo u sustav emulzija,

već i u bezvodne kreme (balzame). Uobičajeno ga se koristi 20-50 % u emulzijskim sustavima premda taj postotak može snažno varirati od 1 % (ako se uz njega koriste i drugi emulgatori) do čak 100 % (28, 29).

Lanolin, kao okluziv na koži može smanjiti TEWL 20 do 30 % tako što formira hidrofobni film između korneocita (18).

Shea maslac u romanskim je jezicima poznatiji kao Karite. Dobiva se iz sjemenki afričkog stabla, a tradicionalno se koristio u prehrani i njezi kože. Nekoć se dobivao kuhanjem zdrobljenih plodova, a danas se dobiva na nižim temperaturama. Shea maslac je na sobnoj temperaturi krut (odatle i naziv maslac), a koristi se u velikim količinama u kozmetičkoj industriji. Sadrži velike količine nezasićenih masnih kiselina; stearinsku, oleinsku i linolnu kiselinu (između 7 i 12 %), relativno velike količine lipida koji nisu trigliceridi (karisterol, parkeol, lupeol, katiten i esteri cimetne kiseline), vitamine A i E, te visok sadržaj proteina i minerala. Shea maslac je jedno od rijetkih ulja koja štite kožu od UV-B spektra zračenja zbog prisustva cimetne kiseline. Za takav učinak maslac mora biti nerafiniran. Idealan je za prirodnu kozmetiku, losione za sunčanje i nakon sunčanja. Vraća vlažnost koži pa je izvrstan za njegu zrele kože. Djeluje i protuupalno, pa se može dodavati u pripravke za liječenje bolesti kao što su seboreja, neurodermitis, akne i psorijaza. Zbog čvrste konzistencije, odličan je za njegu usana (dodaje ga se do 20%), a u kozmetičkim pripravcima dodaje ga se do 30 % (30).

Noćurak je dvogodišnja zeljasta biljka visoka do 1,5 metar, često razgranjena, gusto žljezdasto dlakava. Listovi su suličasti, dugi do 15 cm, nazubljeni ili cjelovitog ruba, donji suženi u peteljku, gornji većinom sjedeći. Cvjetovi su žuti, u promjeru do 6 cm združeni u mnogocvjetni grozdasti ili metličasti cvat na vrhu biljke. Iz podraslih plodnica razvija se uski tobolac, dug 1,5-3 cm, a širok 4-8 mm. Samonikla je u Sjevernoj Americi, a u Europu je prenesena kao ukrasna biljka. Ulje se dobiva hladnim prešanjem malih sjemenki, sadrži puno višestruko nezasićenih masnih kiselina (do 10 % **gama-linolenske kiseline**, do 72 % linolne kiseline) i maksimalno 8 % zasićenih masnih kiselina (31).

Biljno ulje sjemenki noćurka se koristi oralno u tretmanima sniženja razine kolesterola. Koristan je dodatak prehrani i pomaže u kroničnim upalnim bolestima. Djeluje protiv aterosklerotičnih promjena, smanjuje rizik tromboze kod srčanih bolesnika, pomaže obnovi jetre nakon toksičnih šokova (trovanje, alkoholizam). Pomaže funkciji mozga, a preporučuje se i kao dodatak prehrani kod neuroloških poremećaja (od nervoza do shizofrenije) i dijabetesa svih oblika (31).

U kozmetici je korisno za liječenje suhe ispucale kože, dokazana je pomoć kod psorijaze i ekcema. Dodaje se u pakunge protiv prhuti. U količini od 20-30 % dodaje se u pripravke protiv nastajanja bora (31).

Vrlo rano je ustanovljeno da manjak esencijalnih masnih kiselina dovodi do upalnih promjena na koži, i kod životinja i kod ljudi. Stoga noćurak pomaže u kroničnim upalnim bolestima i kožnim tegobama poput akni, psorijaze, raznih ekcema i neurodermitisa gdje uzimanje noćurka može pomoći i popraviti stanje kože ako postoji nedostatak linolenske kiseline (32).

Djelotvornost noćurka pri liječenju neurodermitisa istražena je u mnogim kliničkim studijama. Tako su na primjer četiri kliničke studije ispitivale učinak noćurka na atopijski dermatitis kod djece (33-36), u svim studijama ulje noćurka pokazalo se učinkovitijim u poboljšanju simptoma u odnosu na placebo, s iznimkom jedne studije (33) koja je pokazala značajno poboljšanje simptoma, ali nije bilo značajne razlike u odnosu na placebo. Ispitivanje je provedeno na 82 ispitanika (33,35), a dvije studije nisu navele broj ispitanika (34,36). Sve studije provedene su na djeci. Učinak se procjenjivao prema razini esencijalnih masnih kiselina u plazmi. Tretman uljem noćurka trajao je 16 tjedana (33), 4 tjedna (35) i 20 tjedana (36), dok u jednoj studiji nije naveden period trajanja (34), tri studije nisu navele način primjene (33-35), dok je u jednoj ulje noćurka korišteno oralno (36). Ulje noćurka nepoznate doze u svim studijama pokazalo je znatno poboljšanje kliničke slike te značajne promjene u razini esencijalnih masnih kiselina. U svim studijama korišteni su monopreparati te se ne može znati bi li učinak kombinirane terapije mogao biti veći ili manji. U studijama nisu zabilježene nuspojave.

Studije (33-36) pokazuju da se primjena ulja noćurka pokazala učinkovitom u smanjenju simptoma i poboljšanja kliničke slike kod djece sa atopijskim dermatitisom. U poboljšanju simptoma atopijskog dermatitisa veliku ulogu čine esencijalne masne kiseline od kojih je najvažnija gama linolenska kiselina. Noćurak dobro njeguje ljuskavu i suhu kožu, smanjuje perutanje kože, pomaže ispucanoj koži.

Urea je humektans (tvar koja na sebe veže vodu) i ovlaživač (tvar koja kožu opskrbljuje vlagom). Održava poželjnu razinu vlage u koži, omekšava kožu i poboljšava njenu elastičnost. Samim time, urea sprječava prijevremeno starenje i pojavu bora jer one nastaju na suhoj i nedovoljno njegovanoj koži. Česti je sastojak krema za hidrataciju kože i to ne samo za kozmetičku primjenu nego i za liječenje dermatoza kod kojih se javlja izrazito suha, prhutava koža (11).

Posebice nedostatak uree u rožnatom sloju kože se povezuje s atopijama, psorijazom te kserozom kod starijih ljudi (10).

Povoljno djeluje na cijeljenje rana i oštećenja kože. Za pripravke za redovnu njegu i blagi keratolitički učinak koriste se koncentracije do 2-5 %, za intenzivniji keratolitički učinak 5-15 % (32).

Također je uočena smanjena razina uree u eksperimentalno induciranoj ljuskavoj koži i kod bolesnika s ihtiozom. Meka i savitljiva koža dobivena je u sedam pacijenata s teškom ihtiozom nakon tretmana s formulacijom koja je sadržavala 10% uree (37).

Isto tako, još je jedna placebo-kontrolirana studija pokazala kako je pripravak s 5% uree bio odgovoran za poboljšanje barijerne funkcije kože. Nakon ponovljenih primjena s tim pripravkom, smanjio se transepidermalni gubitak vode u SC-u (18), te se smanjila iritacija na koži, inducirana sa natrijev lauril sulfatom (SLS-om) (11, 38).

Ceramidi su specifična skupina lipida u rožnatom sloju kože. Najvažniji su strukturni element prirodne zaštitne barijere epidermisa (10).

S obzirom da su ceramidi značajno reducirani u pacijenata koji boluju od atopijskog dermatitisa, relipidacija je jedan od osnovnih smjerova kozmetske terapije. Brojne studije pokazuju kako lokalna primjena ceramida (fosfolipida i sfingolipida, dobivenih iz biljnih ulja) u vrlo kratkom vremenu obnavlja oštećenu hidrolipidnu barijeru rožnatog sloja epidermisa, te se smanjuje mogućnost velikog transepidermalnog gubitka vode i nastanka sekundarnih infekcija. Ceramidi, koji se koriste u kozmetičkim pripravcima, proizvode se patentiranim postupkom biofermentacije i imaju istu strukturu kao i ceramidi koji su prirodno prisutni u koži (4).

3.2.METODE

3.2.1.OPIS PROVEDENOG ISTRAŽIVANJA

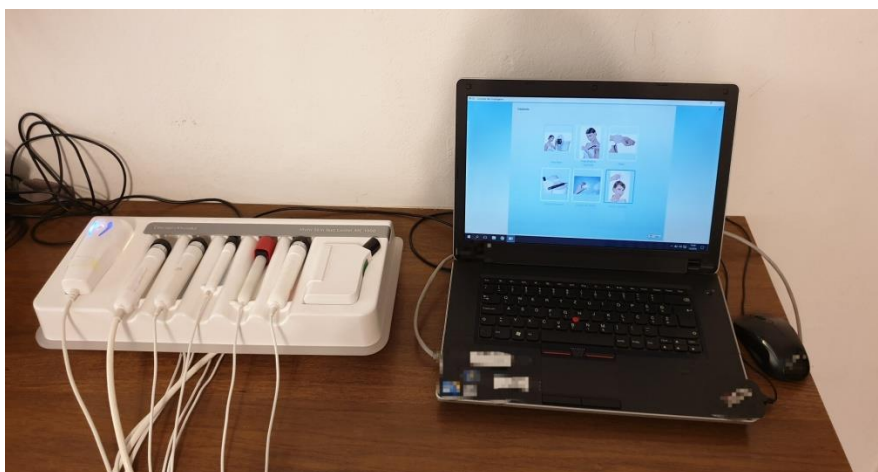
S ciljem utvrđivanja djelotvornosti pripremljenih formulacija, emolijentnoga gela za pranje i emulzije za njegu kože u osoba s atopijskim dermatitisom, provedeno je 24-satno ispitivanje na 10 ispitanika s dijagnozom atopijskog dermatitisa, s rasponom dobi od 20-65 godina starosti, nakon što su dali svoj pisani pristanak. Istraživanje je provedeno u Gradskoj ljekarni Zagreb OJ13, u Kamenitoj ulici 9 u Zagrebu na način da je napravljena analiza kože oboljelih pomoću uređaja MultiSkin Test Center MC 1000 i Visioscope kamere ("Courage+Khazaka", Köln, Njemačka) neposredno prije i 24 sata nakon primjene formulacija. Korištene su sonde za mjerenje transepidermalnog gubitka vode (TEWL-metar) i za mjerenje hidratacije kože (korneometar). Mjerenja su provedena na oba obraza na površini kože od 9 cm². Ispitanike se uputilo da dva tjedna prije svih mjerenja na obrazima ne koriste kozmetičke niti medicinske proizvode. Na dan ispitivanja, prije mjerenja, razgovorom je provjereno da li su se ispitanici držali uputa, te su proveli najmanje 30 minuta u Gradskoj ljekarni Zagreb OJ13, u Kamenitoj ulici 9 u Zagrebu, kako bi se omogućila puna prilagodba kože na trenutnu sobnu temperaturu (21 ± 2 °C) i relativnu vlažnost ($60 \% \pm 5 \%$) u ljekarni. Nakon prvog mjerenja ispitanici su dobili uzorke pripremljenih formulacija gela za pranje od 10 ml i emulzije od 5 g, koje su sami primijenili u potpunosti samo na jednom obrazu u ljekarni. Nakon 24 sata su došli opet na mjesto ispitivanja, kako bi ponovili mjerenje stanja kože oba obraza. Rezultati mjerenja na ne-tretiranom obrazu poslužili su kao kontrola.

3.2.2. ETIČKO ODOBRENJE I SUGLASNOST ISPITANIKA ZA SUDJELOVANJE

Utvrđivanje djelotvornosti pripremljenih dermatokozmetičkih formulacija, emolijentnoga gela za pranje i emulzije za njegu kože u osoba s atopijskim dermatitisom provedeno je u skladu sa svim važećim i primjenjivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje postupaka i sigurnost osoba koje sudjeluju u znanstvenom istraživanju, uključujući Osnove dobre kliničke prakse, Helsinšku deklaraciju, Zakon o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (N/N 121/03) i Zakon o pravima pacijenata Republike Hrvatske (N/N169/04). Svi ispitanici su prije sudjelovanja potpisali *Informirani pristanak* za sudjelovanje u istraživanju u kojem se objašnjava zašto se ono provodi, koji je postupak i koji bi mogli biti rizici za njihovo zdravlje ukoliko pristanu sudjelovati. Identitet ispitanika je ostao povjerljiv i zaštićen. Istraživanje je odobreno od strane Povjerenstva za etičnost eksperimentalnog rada Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta na redovitoj sjednici održanoj 7. lipnja 2018. godine.

3.2.3. APARATURA

MultiSkin Test Center MC 1000 i Visioscope kamera ("Courage + Khazaka", Köln, Njemačka) je profesionalni uređaj koji se sastoji od računala povezanog sa sondama za ispitivanje kože (korneometar, sebumetar, pH metar, meksametar, TEWL-metar, termometar) (slika 8.). Uređaj omogućuje objektivno i neinvazivno određivanje stanja kože (hidratacija, elastičnost, sadržaj sebuma), određivanje tipa kože, analizu hiperpigmentacijskih mrlja, analizu kapilara, crvenila na koži, širine i stanja pora, dubine i lokalizacije bora, mjerenje transepidermalnog gubitka vode (TEWL) i pregled kože mikrokamerom (39).



Slika 8. MultiSkin Test Center MC 1000.

3.2.3.1 KORNEOMETAR

Sonda-tehnički podaci: - dimenzija: 11 cm

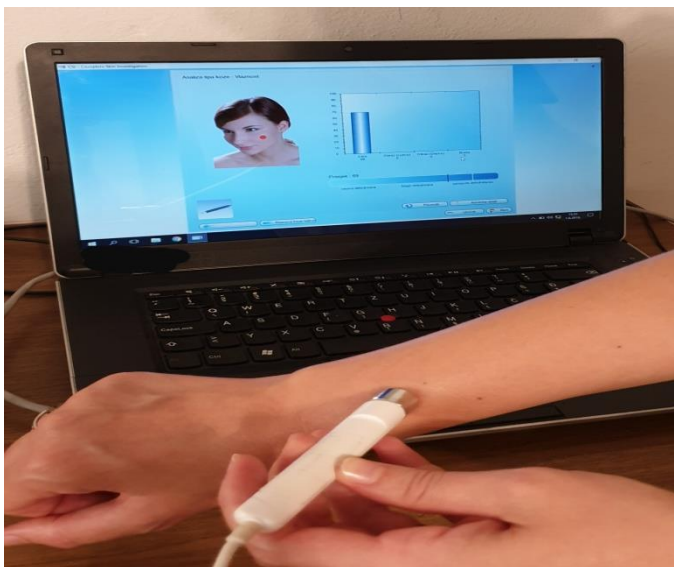
- težina: 41g
- površina mjerenja: 49 mm²
- jedinice: arbitrarne
- točnost mjerenja: $\pm 3 \%$

Korneometar služi za određivanje stupnja hidratacije površine kože, točnije hidratacije *Stratum corneuma* (20-30 μm od površine kože) (slika 9.).

Princip metode. Dielektrična konstanta (permitivnost) je mjera sposobnosti tvari da smanji elektrostatske sile između dva nabijena tijela. Permitivnost vode ($E=81$) je značajno različita od permitivnosti drugih tvari u koži ($E<7$). Ako se na tvar relativno visoke vrijednosti permitivnosti (npr.voda) djeluje električnim poljem, magnituda električnog polja ovisi o količini te tvari i na taj način se određuje hidratacija površine kože.

Primjena. Stupanj hidratacije kože osnovni je parametar dermatoloških i kozmetoloških ispitivanja, pa se može koristiti prilikom ispitivanja učinkovitosti ovlaživača (humektansa) te prilikom postavljanja dijagnoze i praćenja terapije.

Prednosti. Na rezultate mjerenja ne utječu tvari u koži niti hidratacija dubljih slojeva kože. Mjerenja su izrazito brza (1s). Sonda za mjerenje je izrazito mala, lagana i jednostavna za rukovanje. Opruga ugrađena u sondu osigurava stalni tlak na površini kože pri mjerenju zbog čega se dobivaju reproducibilni rezultati mjerenja (40).



Slika 9. Mjerenje hidratacije kože korneometrom.

3.2.3.2. TEW(A)L-METAR

Sonda-tehnički podaci: - šuplji cilindar: 2cm, \emptyset 1cm

- površina kože: 0,79 cm²

- sonda: 15,3 cm

- težina: 90g

- točnost mjerenja: $\pm 0,5$ g/m²/h za RH \geq 30 %; $\pm 1,0$ g/m²/h za RH \leq 30 %, u temperaturnom području 10 - 40 °C i TEWL vrijednosti <70 g/m²/h

TEWL-metar služi za određivanje barijerne uloge kože i transepidermalnog gubitka vode (TransEpidermal Water Loss; TEWL) (slika 10).

Tehnički podaci. Sondu je potrebno zagrijati na temperaturu kože s ciljem preciznog mjerenja TEWL (potreban je grijač sonde).

Princip metode. Mjerenje se obavlja pomoću otvorenog odjeljka koji sadrži senzore za temperaturu i relativnu vlažnost. Određuje se gradijent vlažnosti na površini kože (TEWL).

Fickov zakon difuzije: $dm/dt = - D \times A \times dp/dx$

dm/dt – fluks vode \equiv TEWL [g/m²/h]

D – difuzijski koeficijent vodene pare u zraku [g/m] pri određenom tlaku zraka

A – površina kože [m²]

dp/dx – promjena tlaka vodene pare ovisno o udaljenosti od površine kože (mm Hg/m)

Primjena. Koristi se za određivanje barijerne uloge epidermisa pri fiziološkim ili patofiziološkim stanjima kože, zatim za određivanje stupnja oštećenja kože korištenjem steriliziranih cilindara (mjerenja se obavljaju na oštećenoj koži, npr. rane), te kod *in vitro* ispitivanja permeabilnosti (TEWL cilindar se smješta iznad donorskog odjeljka Franzove difuzijske ćelije).

Prednosti. Korištenje otvorenog odjeljka pri mjerenju osigurava kontinuirano mjerenje TEWL bez utjecaja na površinu kože. Mala veličina sonde osigurava minimalnu turbulenciju zraka pri mjerenju (41).



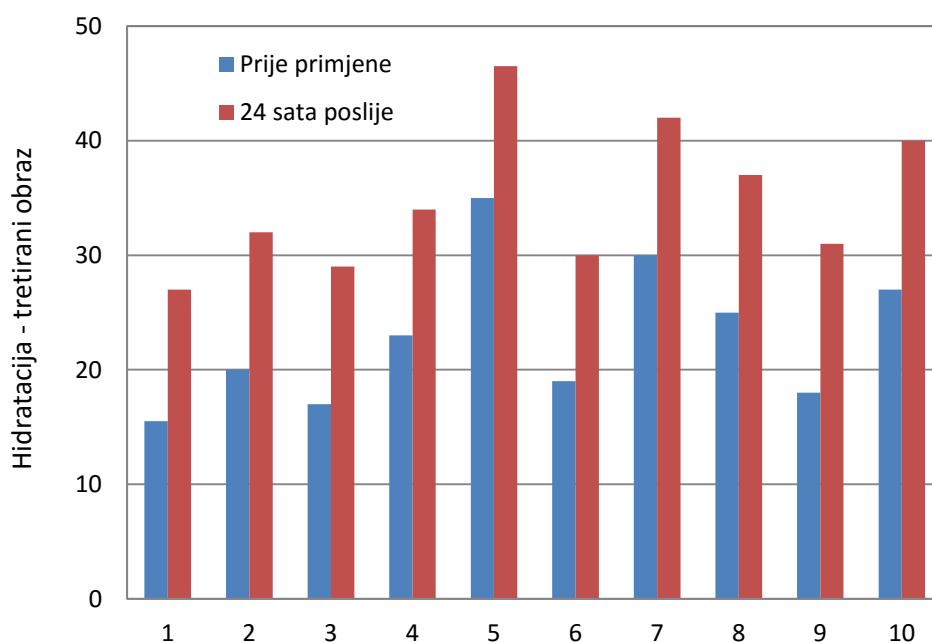
Slika 10. Mjerenje transepidermalnog gubitka vode s TEWL-metrom.

4. REZULTATI

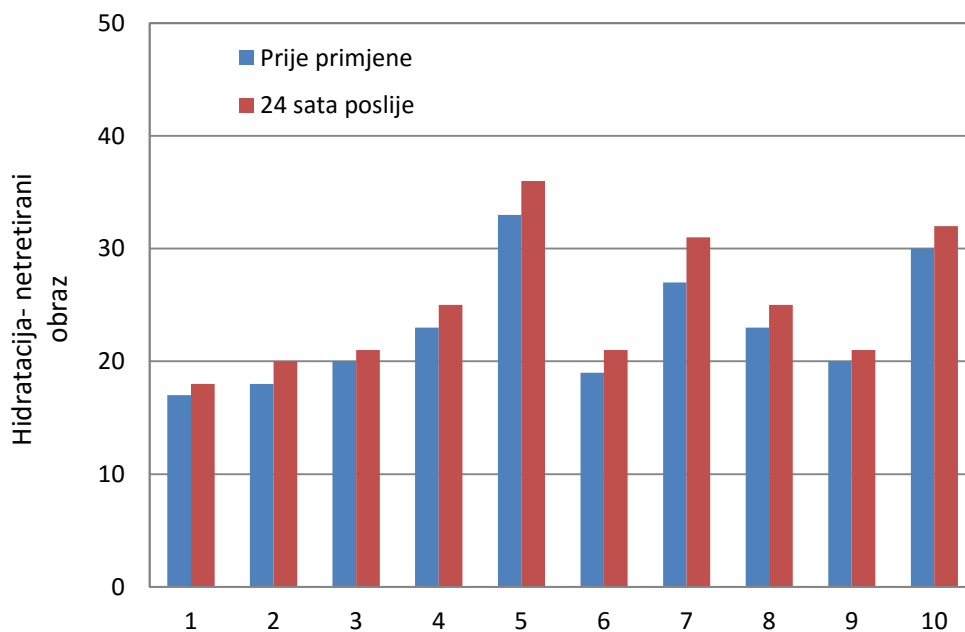
Usporedne vrijednosti za hidrataciju (AU) i TEWL ($\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) izmjerene neposredno prije, te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija prikazane su na **Slikama 11. - 14.**

Iz rezultata prikazanih na **Slici 11.** može se vidjeti da je hidratacija na tretiranom obrazu povećana nakon 24 sata od primjene formulacija u svih od 10 ispitanika. Vrijednosti hidratacije izmjerene na kontrolnom (ne-tretiranom) obrazu nisu se značajnije promijenile nakon 24 sata u odnosu na početno izmjerene vrijednosti (**Slika 12.**). Sukladno s tim, se je TEWL izmjeren na tretiranom obrazu kod svih 10 ispitanika smanjio nakon 24 sata od primjene formulacija (**Slika 13.**), a TEWL vrijednosti izmjerene na kontrolnom obrazu nisu se promijenile nakon 24 sata u odnosu na početno izmjerene vrijednosti (**Slika 14.**).

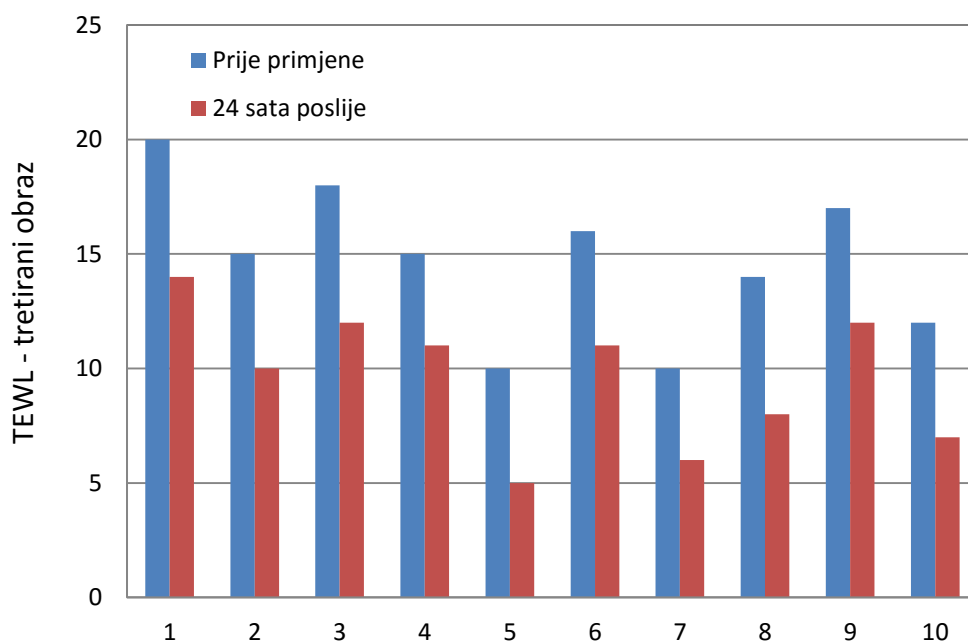
Srednje vrijednosti parametara (TEWL i hidratacije) izmjerenih na tretiranom obrazu neposredno prije te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija zajedno s vrijednostima parametara izmjerenih na ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto) prikazani su na **Slikama 15. i 16.**



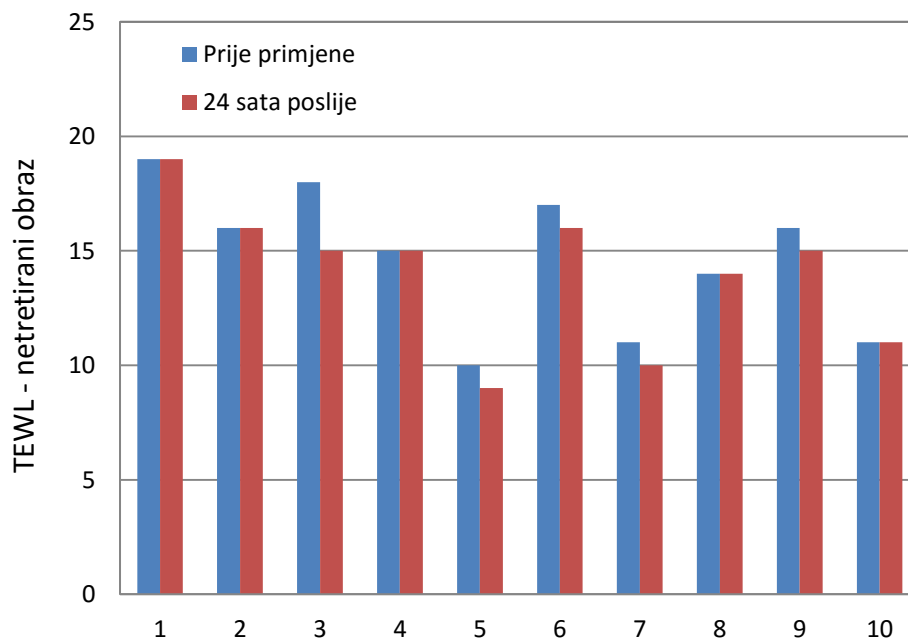
Slika 11. Hidratacija kože (AU) izmjerena na tretiranom obrazu svih ispitanika neposredno prije te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija.



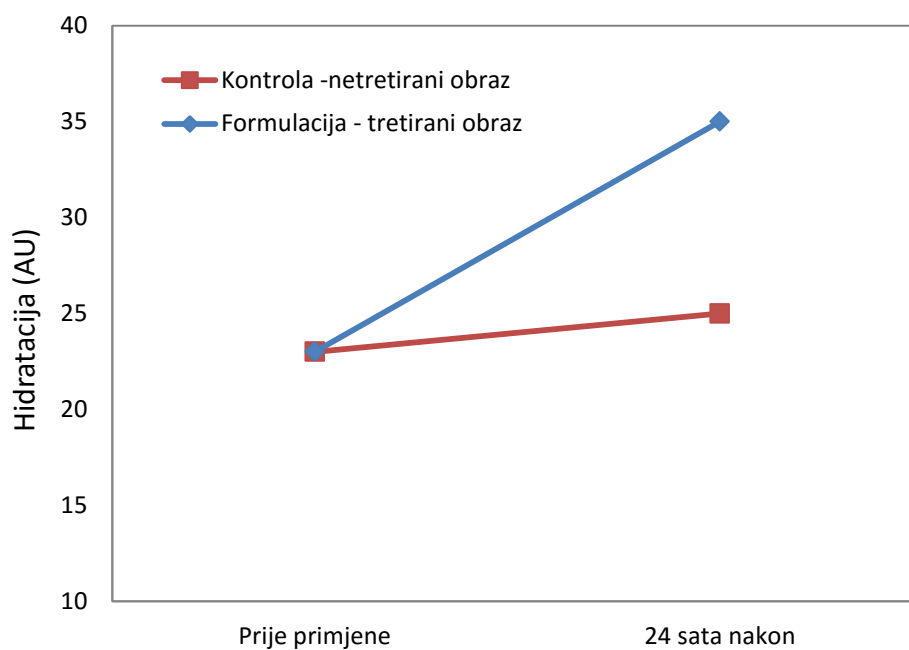
Slika 12. Hidratacija kože (AU) izmjerena na ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto) ispitanika neposredno prije te 24 sata nakon primjene formulacija na tretiranom obrazu.



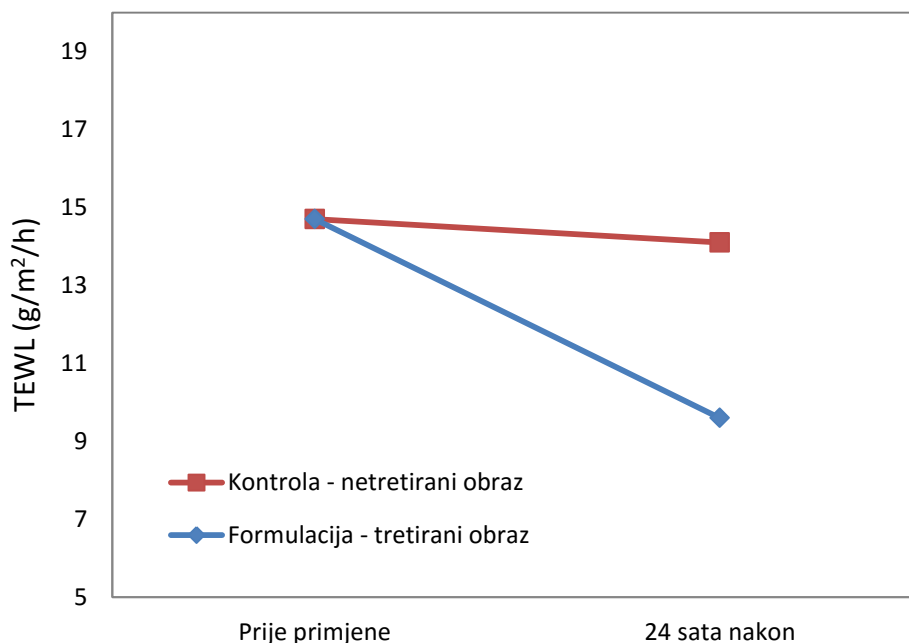
Slika 13. TEWL (g/m²/h) izmjeren na tretiranom obrazu ispitanika neposredno prije te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija.



Slika 14. TEWL ($\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) izmjeren na ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto) ispitanika neposredno prije te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija na tretiranom obrazu.



Slika 15. Srednja vrijednost parametra hidratacije kože (AU) izmjenog na tretiranom i ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto) neposredno prije te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija na tretiranom obrazu.



Slika 16. Srednja vrijednost parametra TEWL-a ($\text{g/m}^2/\text{h}$) izmjeren na tretiranom i ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto) neposredno prije te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija na tretiranom obrazu.

Iz rezultata prikazanih na **Slici 15.** može se vidjeti da je srednja vrijednost parametra hidratacije kože izmjerena na tretiranom obrazu 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija povećana za gotovo 40 % u odnosu na početnu vrijednost (izmjerenu prije primjene formulacija).

Također, rezultati prikazani na **Slici 16.** ukazuju da je srednja vrijednost parametra TEWL-a izmjerena na tretiranom obrazu 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija smanjena za gotovo 32 % u odnosu na početnu vrijednost.

S ciljem utvrđivanja statistički značajnih razlika između vrijednosti parametara hidratacije i TEWL-a izmjerenih na tretiranom i ne-tretiranom obrazu neposredno prije te 24 sata nakon primjene formulacija na tretirani obraz, provedena je statistička obrada rezultata primjenom Mann-Whitney-evog *U* testa.

Uspoređene su vrijednosti parametra hidratacije izmjerenih na tretiranom i ne-tretiranom obrazu neposredno prije (početne vrijednosti), te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija na tretirani obraz. Isti postupak primijenjen je i za izmjerene vrijednosti parametra TEWL. S obzirom da ispitanici nisu nanosili razvijene formulacije na ne-tretirani obraz, vrijednosti parametara hidratacije i TEWL-a izmjereni neposredno prije, te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija na tretirani obraz, poslužili su kao kontrola (kontrolne vrijednosti).

Rezultati statističke analize prikazani su u **Tablici 3.**

Tablica 3. Statistički parametri (U , p , α) određeni primjenom Mann-Whitney-evog U testa za usporedbu vrijednosti hidratacije i TEWL-a izmjerenih na tretiranom i ne-tretiranom obrazu neposredno prije (početne vrijednosti), te 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija na tretirani obraz.

	$U_{\text{izračunata}}$	$U_{\text{kritična}}$	P	α
Hidratacija / početne vrijednosti na tretiranom i ne-tretiranom obrazu	47,5	26	0,624	0,05
TEWL / početne vrijednosti na tretiranom i ne-tretiranom obrazu	48,5	23	0,936	0,05
Hidratacija / vrijednosti na tretiranom i ne-tretiranom obrazu 24 sata nakon primjene formulacija	24	31	0,016	0,05
TEWL /vrijednosti na tretiranom i ne-tretiranom obrazu 24 sata nakon primjene formulacija	16	27	0,006	0,05

Legenda: $U_{\text{izračunata}}$ – izračunata vrijednost testa; $U_{\text{kritična}}$ – kritična vrijednost testa (određuje se tablično s obzirom na broj subjekata - n i razinu pouzdanosti - α); P – stupanj vjerojatnosti pri zadanom intervalu pouzdanosti; α – razina pouzdanosti testa

Rezultati statističke analize prikazani u **Tablici 3** ukazuju da nema statistički značajne razlike između izmjerenih početnih vrijednosti hidratacije kože i TEWL-a na tretiranom i ne-tretiranom obrazu (kontrola) na početku ispitivanja, neposredno prije primjene razvijenih formulacija na tretirani obraz. U vrijednost određene za veličinu uzorka $n = 10$ (broj ispitanika) uz interval pouzdanosti od 95 % ($\alpha = 0,05$) u oba slučaja (tretirani i ne-tretirani obraz) veće su od kritične vrijednosti ($U_{\text{izračunata}} > U_{\text{kritična}}$) što potvrđuje hipotezu da se dva skupa podataka (početne vrijednosti u usporedbi s kontrolnim vrijednostima) međusobno statistički ne razlikuju.

Izmjerene vrijednosti hidratacije kože na tretiranom obrazu 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija bile su znatno veće (do 40 %) u odnosu na vrijednosti izmjerene na ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto). Također, vrijednosti TEWL-a izmjerene na tretiranom obrazu 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija bile su znatno niže (do 32 %) u usporedbi s vrijednostima izmjerenim na ne-tretiranom obrazu (kontrolno mjesto).

Statistička analiza (**Tablica 3**) potvrdila je da postoji statistički značajna razlika između dva skupa podataka, izmjerenih vrijednosti hidratacije kože i TEWL-a određenih 24 sata nakon primjene razvijenih formulacija, u usporedbi s kontrolom s obzirom da su U vrijednost određene za veličinu uzorka $n = 10$ (broj ispitanika) uz interval pouzdanosti od 95 % ($\alpha = 0,05$) u oba slučaja (tretirani i netretirani obraz) bile manje od kritične vrijednosti ($U_{\text{izračunata}} \leq U_{\text{kritična}}$).

5. RASPRAVA

Najnoviji znanstveni dokazi o uzrocima nastanka atopijskog dermatitisa omogućavaju bolje razumijevanje bolesti i primjenu prikladne terapije. Jedan od glavnih uzroka kroničnog stanja atopijskog dermatitisa je oštećena barijerna funkcija kože. Čimbenici koji dovode do oštećenja barijerne funkcije kože, a povezani su s patologijom atopijskog dermatitisa, su deficit ili nedostatak filagrina (13) te time i prirodnih faktora ovlaživanja (NMF) i lipida (4) (ceramidi, kolesterol, masne kiseline) u rožnatom sloju epidermisa, posljedica čega je povećani transepidermalni gubitak vode iz epidermisa i smanjena hidratacija. Koža postaje suha, ljušti se i svrbi. Stoga je cilj djelatnih tvari u razvijenim formulacijama obnoviti oštećenu barijernu funkciju kože, te smanjiti transepidermalni gubitak vode i povećati hidrataciju epidermisa i na taj način ublažiti simptome bolesti.

Topikalno primijenjeni **glicerol** se lako upija u kožu i s obzirom na sposobnost vezanja vode održava hidrataciju kože (15). U kombinaciji s **dekspantenolom** pospješuje popravak kožne barijere. Ostali djelatni sastojci razvijene emulzije; ceramidi, kolesterol (lanolin), te esencijalne masne kiseline (linolna, linolenska-koje se nalaze u većoj količini u **biljnom ulju noćurka** (26) i **jojobe** (3), te **ekstraktu sjemenki ječma** (21)) obnavljaju epidermalnu barijeru kože te pridonose smanjenju transepidermalnog gubitaka vode iz epidermisa (3, 17, 32). U **lanolinu** dominiraju lanolinske kiseline (preko 200 različitih) te lanolinski alkoholi (preko 100 različitih), no od spojeva najviše je KOLESTEROLA i lanosterola. Alkoholi i kiseline grade estere u lanolinu i smatra se da ih ima više od 10 000 različitih kombinacija (28,29).

Sastav razvijenog emolijentnog gela za pranje u osoba s atopijskim dermatitisom uključuje **lauroat**, prirodnu neiritirajuću površinski aktivnu tvar za pranje (pjenilo) koje se dobiva iz aminokiselina zobi. Lauroat je nježniji za kožu, a jednako učinkovito uklanja nečistoće kao i sintetska pjenila (*Sodium Lauryl Sulfate*, *Sodium Laureth Sulfate*) prisutna u većini proizvoda za održavanje higijene za koja se zna da mogu iritirati kožu i da povećavaju pH kože (12, 14).

6. ZAKLJUČAK

Rezultati 24-satnog ispitivanja provedenog na 10 osoba s dijagnosticiranim atopijskim dermatitisom pokazali su da se primjenom razvijenih formulacija (emolijentnoga gela za pranje i emulzije za njegu kože osoba s atopijskim dermatitisom) u čijem sastavu su humektansi, lipidi, dekspantenol i blaga sredstva za pranje, **hidratacija kože poboljšala za 40 %** dok se **transepidermalni gubitak vode iz epidermisa (TEWL) smanjio za gotovo 32 %**. Statistička analiza provedena primjenom Mann-Whitney-evog *U* testa pokazala je da postoji statistički značajna razlika između parametara izmjerenih na tretiranom obrazu i ne-tretiranom obrazu koji je služio kao kontrola, 24 sata nakon primjene formulacija uz interval pouzdanosti od 95 %.

7. LITERATURA

1. Šitum M, Buljan M, Čavka M, Kotrulja L, Pustišek N, Poduje S, et al. Dermatovenerologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. p. 117-21.
2. Jensen JM, Proksch E. The skin's barrier. *G Ital Dermatol Venereol.* 2009;144(6):689-700.
3. Lipozenčić J, Murat-Sušić S, Šitum M, Skerlev M, Filipović V, Labar, et al. Dermatovenerologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2004. p.163-71.
4. Sahle FF, Gebre-Mariam T, Dobner B, Wohlrab J, Neubert R H H. Skin Diseases Associated with the Depletion of Stratum Corneum Lipids and Stratum Corneum Lipid Substitution Therapy. *Skin Pharmacol Physiol* 2015;28:42–55.
5. Gao Y, Tannenbaum A, Chen H, Torres M, Yoshida E, Yang X, et al. Automated skin segmentation in ultrasonic evaluation of skin toxicity in breast cancer radiotherapy. *Ultrasound Med Biol.* 2013 Nov; 39(11):2166–2175.
6. Elias PM. Skin barrier function. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2008;8(4):299–305.
7. Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WHI. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci.* 2009 May 1; 122(9):1285–1294.
8. Feingold KR. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J Lipid Res.* 2007;48:2531-46.
9. Krakowski AC, Barrier Repair: Where Do We Stand? *Practical Dermatology.* December 2013:38-40.
10. Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther.* 2004;17:43–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1396-0296.2004.0451005.x>
11. Lodén M. Effect of moisturizers on epidermal barrier function. *Clin Dermatol.* 2012; 30(3):286–96.
12. Kabashima K. New concept of the pathogenesis of atopic dermatitis: Interplay among the barrier, allergy, and pruritus as a trinity. *Journal of Dermatological Science,* 2013. 70(1): p. 3-11.
13. Levin J, Fallon-Friedlander S, Q. Del Rosso J. Atopic Dermatitis and the Stratum Corneum: Part 1: The Role of Filaggrin in the Stratum Corneum Barrier and Atopic Skin. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2013 Oct; 6(10):16–22

14. McLean WHI. The allergy gene: how a mutation in a skin protein revealed a link between eczema and asthma. *F1000 Medicine Reports* 2011 Jan 14; 3:2. Available from:
<http://f1000.com/reports/m/3/2>
15. Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, Hadgraft J, Lane ME, Moustafa M, et al. Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009; 129:1892–1908.
16. Gonzalez T, Biagini Myers JM, Herr AB, Khurana Hershey GK. Staphylococcal Biofilms in Atopic Dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2017 Oct 23; 17(12): 81.
17. Ananthapadmanabhan KP, Moore DJ, Subramanyan K, Misra M, Meyer F. Cleansing without compromise: the impact of cleansers on the skin barrier and the technology of mild cleansing. *Dermatologic Therapy*. 2004; 17: 16–25.
18. Downie JB. Understanding Moisturizers and their Clinical Benefits. *Pediatric Skincare*. 2010 September/October:19-22.
19. Verdier-Sévrain S, Bonté F. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *J Cosmet Dermatol*. 2007;6(2):75–82.
20. Lee SH, Jeong SK, Ahn SK. An update of the defensive barrier function of skin. *Yonsei Med J*. 2006;47(3):293–306.
21. Lowe AJ, Leung DYM, Tang MLK, Su JC, Allen KJ. The skin as a target for prevention of the atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2018; 120: 145–51.
22. Corazza M, Lauriola MM, Bianchi A, Zappaterra M, Virgili A. Irritant and sensitizing potential of eight surfactants commonly used in skin cleansers: an evaluation of 105 patients. *Dermatitis*. 2010 Sep-Oct;21(5):262-8.
23. Agencija za lijekove i medicinske proizvode RH. *Hrvatska farmakopeja 2007 s komentarima*. Zagreb: Hrvatsko farmaceutsko društvo; 2007. p. 102.
24. Marković S. *Fitoaromaterapija*. Zagreb: Centar Cedrus; 2005. p. 319.
25. Iguchi T, Kawata A, Watanabe T, Mazumder TK, Tanabe S. Fermented barley extract suppresses the development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice, probably by inhibiting inflammatory cytokines. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2009 Mar 23;73(3):489-93.
26. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical Use of Dexpanthenol in Skin Disorders. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2002 August;3(6):427–33. Available from:
<https://link.springer.com/article/10.2165%2F00128071-200203060-00005>

27. Hublik G, Xanthan. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*. 2012.; 10: 221-229.
Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.01529-0>
28. Agencija za lijekove i medicinske proizvode RH. *Hrvatska farmakopeja 2007 s komentarima*. Zagreb: Hrvatsko farmaceutsko društvo; 2007. p. 154-5.
29. Kuštrak D. *Farmakognozija-Fitofarmacija*. Zagreb: Golden marketing- Tehnička knjiga; 2005. p.215-6.
30. Marković S. *Fitoaromaterapija*. Zagreb: Centar Cedrus; 2005. p.323.
31. Marković S. *Fitoaromaterapija*. Zagreb: Centar Cedrus; 2005. p.322.
32. Nasrollahi SA, Ayatollahi A, Yazdanparast T, Samadi A, Hosseini H, Shamsipour M, et al. Comparison of linoleic acid-containing water-in-oil emulsion with urea-containing water-in-oil emulsion in the treatment of atopic dermatitis: a randomized clinical trial. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2018 Jan 5;11:21-28.
33. Hederos CA, Berg A. Evening primrose oil treatment in atopic dermatitis and asthma. *Arch Dis Child*. 1996 Dec;75(6):494-7.
34. Biagi PL, Bordoni A, Hrelia S, Celadon M, Ricci GP, Cannella V, et al. The effect of gamma-linolenic acid on clinical status, red cell fatty acid composition and membrane microviscosity in infants with atopic dermatitis. *Drugs Exp Clin Res*. 1994;20(2):77-84.
35. Bordoni A, Biagi PL, Masi M, Ricci G, Fanelli C, Patrizi A, et al. Evening primrose oil (Efamol) in the treatment of children with atopic eczema. *Drugs Exp Clin Res*. 1988;14(4):291-7.
36. Biagi PL, Bordoni A, Masi M, Ricci G, Fanelli C, Patrizi A, et al. A long-term study on the use of evening primrose (Efamol) in atopic children. *Drugs Exp Clin Res*. 1988;14(4):285-90.
37. Swanbeck G. A new treatment of ichthyosis and other hyperkeratotic conditions. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1968;48:123-7.
38. Lodén M, Bárány E, Mandahl P, Wessman C. The influence of urea treatment on skin susceptibility to surfactant-induced irritation: a placebo-controlled and randomized study. *Exog Dermatol* 2004;3:1-6.
39. <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/cosmetic-consulting-at-the-point-of-sale/177-mc1000>
40. <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/55-corneometer>
41. <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/139-tewameter>