

# Uloga koncentracije kortizona u slini i značajki slušnih evociranih potencijala moždanog debla u procjeni rizika od ranog profesionalnog oštećenja sluha bukom

---

Žaja, Roko

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:283829>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-08**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Roko Žaja**

**Uloga koncentracije kortizona u slini i  
značajki slušnih evociranih  
potencijala moždanog debla u procjeni  
rizika od ranog profesionalnog  
oštećenja sluha bukom**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2024.**

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

**Roko Žaja**

**Uloga koncentracije kortizona u slini i  
značajki slušnih evociranih  
potencijala moždanog debla u procjeni  
rizika od ranog profesionalnog  
oštećenja sluha bukom**

**DISERTACIJA**

Zagreb, 2024.

Disertacija je izrađena na Audiološko-fonijatrijskom dijagnostičko-terapijskom odjelu Klinike za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada te na Zavodu za zdravstvenu ekologiju i medicinu rada i sporta Škole narodnog zdravlja Andrija Štampar Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je financirano sredstvima projekta *Prevenција prekomjernih psihofizioloških i statodinamičkih napora i očuvanje radne sposobnosti radnika koji rade u smjenama* (sveučilišna potpora, voditelj: izv. prof. dr. sc. Milan Milošević).

Voditelji rada: izv. prof. dr. sc. Mihael Ries i izv. prof. dr. sc. Milan Milošević

Zahvaljujem svojim mentorima, Mihaelu Riesu i Milanu Miloševiću na stručnim savjetima tijekom izrade disertacije. Posebno zahvaljujem Sanji Stipičević s Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada na izvanrednoj podršci u savladavanju kemijskih aspekata ovoga istraživanja.

# SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1.	Procjena rizika od profesionalnoga oštećenja sluha bukom.....	1
1.2.	Evocirani slušni potencijali moždanoga debla .....	12
1.3.	Kortizon u slini.....	14
<b>2.</b>	<b>HIPOTEZA.....</b>	<b>21</b>
<b>3.</b>	<b>CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>22</b>
3.1.	Opći cilj .....	22
3.2.	Specifični ciljevi.....	22
<b>4.</b>	<b>SUDIONICI I METODE.....</b>	<b>23</b>
4.1.	Sudionici.....	23
4.1.1.	Procjena rizika od oštećenja sluha bukom i probir sudionika.....	23
4.1.2.	Megersonin upitnik za identifikaciju mladih odraslih osoba s visokim rizikom od oštećenja sluha bukom.....	24
4.2.	Metode.....	25
4.2.1.	Ljestvica doživljenog stresa (engl. <i>Perceived Stress Scale</i> , PSS) .....	25
4.2.2.	Upitnik za procjenu psihosocijalnih rizika na mjestu rada <i>Health and Safety Executive</i> (engl. HSE).....	25
4.2.3.	Ispitivanje evociranih slušnih potencijala moždanoga debla.....	26
4.2.4.	Određivanje koncentracije kortizola i kortizona u slini .....	29
4.2.4.1.	Prikupljanje uzoraka sline .....	29
4.2.4.2.	Priprema uzoraka sline za analizu .....	30
4.2.4.3.	Laboratorijski instrumenti, pribor i kemikalije .....	31
4.2.4.4.	Validacija istovremene kromatografske analize kortizola i kortizona u slini ....	33
4.2.4.5.	Kvalitativna i kvantitativna analiza kortizola i kortizona u slini .....	39
4.2.5.	Statističke metode .....	41
4.2.6.	Etičnost provedbe istraživanja .....	43
<b>5.</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>44</b>
5.1.	Kortizon i kortizol u slini .....	44
5.2.	Povezanost psihičkih napora s kortizonom i kortizolom u slini.....	45
5.3.	Značajke evociranih slušnih potencijala moždanoga debla .....	47

5.4. Povezanost značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla s kortizonom i kortizolom u slini .....	49
5.5. Statistički model za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom.....	51
<b>6. RASPRAVA .....</b>	<b>52</b>
6.1. Probir mladih odraslih osoba s velikim rizikom od oštećenja sluha bukom.....	52
6.2. Uloga analize koncentracije kortizona u slini i psihičkih napora u procjeni rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom.....	58
6.3. Uloga značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u procjeni rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom.....	62
6.4. Izrada regresijskog modela za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom .....	65
<b>7. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>67</b>
<b>8. SAŽETAK.....</b>	<b>68</b>
<b>9. SUMMARY.....</b>	<b>69</b>
<b>10. LITERATURA .....</b>	<b>70</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>85</b>

## **PRILOZI**

## Popis kratica

ABR	evocirani slušni potencijali moždanoga debla (engl. <i>Auditory Brainstem Response</i> )
DPOAE	otoakustička emisija distorzirane frekvencije (engl. <i>Distortion Product Otoacoustic Emission</i> )
ELISA	imunoenzimski test (engl. <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> )
HHL	skriveni gubitak sluha (engl. <i>Hidden Hearing Loss</i> )
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )
HSE	upitnik za procjenu psihosocijalnih rizika na mjestu rada (engl. <i>Health and Safety Executive</i> )
LC-MS/MS	vezani sustav tekućinske kromatografije i tandemске spektrometrije masa (engl. <i>Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry</i> )
PSS	ljestvica doživljenog stresa (engl. <i>Perceived Stress Scale</i> )
RIA	radioimunotest (engl. <i>Radioimmunoassay</i> )

# 1. UVOD

## 1.1. Procjena rizika od profesionalnoga oštećenja sluha bukom

Prema posljednjem Izvještaju o sluhu Svjetske zdravstvene organizacije, procjenjuje se da je polovica svjetske populacije pod rizikom od oštećenja sluha zbog izloženosti buci (1). Oštećenje sluha bukom drugi je najčešći uzrok zamjedbenoga oštećenja sluha, odmah nakon prezbiakuzije. Zahvaća oko 5 % svjetske populacije (2), pri čemu je 7 – 21 % oštećenja sluha uzrokovano bukom na mjestu rada. Pobol je manji u zapadnoj Europi u odnosu na središnju i istočnu Europu, a najmanji je u zemljama koje su uspješno implementirale programe za očuvanje sluha, poput Australije, Japana i Novoga Zelanda. U zemljama u razvoju i nerazvijenim zemljama svijeta pobol je znatno veći zbog neregulirane izloženosti buci na mjestima rada i smanjene dostupnosti zdravstvene zaštite (3).

Kvalitetna procjena rizika od profesionalnoga oštećenja sluha bukom temelj je zdravstvenog nadzora radnika koji rade u buci. Opći rizik procjenjuje se pomoću podataka o izloženosti buci na mjestu rada, a individualni rizik pomoću testova za probir i dijagnostiku oštećenja sluha. Procjeni rizika prethodi niz postupaka kojima se utvrđuje: izloženost buci na mjestu rada, primjena obveznih i preporučenih mjera za zaštitu na radu, te zdravstvena sposobnost kandidata i postojećih zaposlenika za početak ili nastavak rada u buci. Procjena rizika u širem smislu odnosi se na izradu dokumenta procjene rizika radnoga mjesta, te upotrebu prikupljenih podataka u svrhu ocjenjivanja radne sposobnosti i utvrđivanja profesionalne etiologije zdravstvenih poremećaja.

Izrada, sadržaj i namjena dokumenta procjene rizika radnih mjesta regulirana je Pravilnikom o izradi procjene rizika (NN 112/2014) (4) i Pravilnikom o izmjenama i dopunama Pravilnika o izradi procjene rizika (NN 129/2019) (5). U izradi dokumenta sudjeluju nadležni liječnici i nezdravstveno osoblje – stručnjaci za zaštitu na radu, voditelji radnih jedinica ili odjela za unaprjeđenje sigurnosti i zaštite zdravlja na radu, ovlaštene osobe za izradu dokumenta procjene rizika, inženjeri i poslodavci (4, 5).



Izrada dokumenta procjene rizika (4) uključuje:

- mjerenje i identifikaciju rizičnih čimbenika
- procjenu realne izloženosti na mjestu rada
- procjenu povezanosti potencijalnih zdravstvenih učinaka s izloženošću identificiranim rizičnim čimbenicima
- određivanje razine rizika

Podaci koji su potrebni za izradu dokumenta (4) su:

- poslovi koji se obavljaju na mjestu rada
- broj radnika koji obavljaju iste poslove
- mjesta rada na kojima se obavljaju poslovi
- uređenje mjesta rada
- popis radne opreme
- popis izvora rizičnih čimbenika
- organizacija rada i raspored radnoga vremena

Na temelju prikupljenih podataka, utvrđeni rizik karakterizira se kao mali, srednji ili veliki. Karakterizaciji rizika doprinosi i stupanj primjene specifičnih mjera za zaštitu na radu, kao i stavovi radnika koji obavljaju predmetne poslove (4, 5). Prema Pravilniku o izradi procjene rizika (NN 112/2014), u karakterizaciji rizika koristi se matrica procjene rizika radi integracije procijenjene vjerojatnosti nastanka i veličine štetne posljedice. Općenito govoreći, vjerojatnost je načelno mala – ako se štetna posljedica ne bi trebala dogoditi tijekom cijele profesionalne karijere radnika, srednja – ako se može dogoditi nekoliko puta, i velika – ako se može ponavljati tijekom karijere. Veličina štetne posljedice načelno je mala – ako ozljede i bolesti ne uzrokuju produljeni bol, srednja – ako uzrokuju umjereni i produljeni ili ponavljajući bol, i velika – ako uzrokuju teški i stalni bol ili smrt. Stoga je zdravstveni rizik velik ako je veličina posljedice srednja uz veliku vjerojatnost nastanka štete, ili ako je veličina posljedice velika uz srednju ili veliku vjerojatnost nastanka štete (4). Razine rizika (mala, srednja, velika) na temelju procijenjene vjerojatnosti nastanka štetne posljedice i procijenjene veličine posljedice štetnoga djelovanja rizičnih čimbenika prikazane su u Tablici 1.1., prema Prilogu I. Pravilnika o izradi procjene rizika (NN 112/2014).

**Tablica 1.1.** Razine rizika (mala, srednja, velika) na temelju procijenjene vjerojatnosti nastanka štetne posljedice i procijenjene veličine posljedice štetnoga djelovanja rizičnih čimbenika, prema Prilogu I. Pravilnika o izradi procjene rizika (NN 112/2014)

MATRICA PROCJENE RIZIKA		VELIČINA POSLJEDICE		
		mala	srednja	velika
VJEROJATNOST	mala	mali rizik	mali rizik	srednji rizik
	srednja	mali rizik	srednji rizik	veliki rizik
	velika	srednji rizik	veliki rizik	veliki rizik

Rizični čimbenici u dokumentu procjene rizika klasificiraju se kao štetnosti, opasnosti i napori. Izloženost rizičnim čimbenicima određena je dozom, vremenom izloženosti i učestalošću izlaganja. Štetnosti djeluju neposredno i dugotrajno, opasnosti kratkotrajno, a napori dugotrajno ili kratkotrajno. Izloženost čimbenicima radnoga okoliša, čija je doza izloženosti iznad propisane granične vrijednosti izloženosti, potencijalne su štetnosti ili napori. Kada je doza izloženosti znatno veća od granične vrijednosti, čimbenici djeluju kao opasnosti. Opasnosti u radnom okolišu mehaničke su, fizikalne i kemijske naravi, štetnosti su fizikalne, kemijske i biološke, a napori su mišićno-koštani (statički i dinamički) i psihički (4).

Buka u dokumentu procjene rizika klasificira se kao kontinuirana, diskontinuirana, impulsna i ometajuća fizikalna štetnost (4). Prema Pravilniku o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu (NN 148/2023), granična vrijednost izloženosti tijekom osmosatnog radnog vremena iznosi 87 dB(A), gornja upozoravajuća vrijednost 85 dB(A) i donja upozoravajuća vrijednost 80 dB(A) (6), što je u skladu s preporučenim vrijednostima Svjetske zdravstvene organizacije (1) i Agencije za zaštitu zdravlja i sigurnost na radu (7). Simbol A uz dB označava mjerenje buke kojim se *oponaša* osjetljivost ljudskoga uha na pojedine frekvencije zvuka (8, 9).

Impulsna buka razine intenziteta  $\geq 140$  dB(A) može djelovati kao opasnost (4), te uzrokovati akustičku traumu koja se može razmatrati kao ozljeda na radu (10, 11). Prema Zakonu o obveznom zdravstvenom osiguranju (NN 80/2013), ozljeda na radu ozljeda je izazvana neposrednim i kratkotrajnim mehaničkim, fizikalnim ili kemijskim djelovanjem, te ozljeda prouzročena naglim promjenama položaja tijela, iznenadnim opterećenjem tijela ili drugim promjenama fiziološkog stanja organizma, ako je uzročno vezana uz obavljanje

poslova, odnosno djelatnosti na osnovi koje je osoba osigurana u obveznom zdravstvenom osiguranju, kao i ozljeda nastala tijekom obveznog kondicijskog treninga vezanog uz održavanje psihofizičke spremnosti za obavljanje određenih poslova, sukladno posebnim propisima (12). Kontinuirana buka, čija je razina intenziteta veća od gornje upozoravajuće ili granične vrijednosti, djeluje kao štetnost, te uzrokuje oštećenje sluha (1, 13) koje se može razmatrati kao profesionalna bolest ili bolest vezana uz rad. Prema Zakonu o listi profesionalnih bolesti (NN 162/1998) i Zakonu o izmjenama i dopunama Zakona o listi profesionalnih bolesti (NN 107/2007), profesionalnom bolešću smatra se bolest za koju se dokaže da je posljedica djelovanja štetnosti u procesu rada i/ili radnom okolišu, odnosno bolest za koju je poznato da može biti posljedica djelovanja štetnosti koje su povezane s procesom rada i/ili radnim okolišem, a intenzitet i duljina trajanja izloženosti toj štetnosti na razini je za koju je poznato da uzrokuje oštećenje zdravlja (14, 15).

Prema Pravilniku o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu (NN 148/2023), radnicima, koji su izloženi buci ekvivalentne razine intenziteta unutar raspona upozoravajućih vrijednosti, preporučeno je štititi sluh antifonima (ušnim štitnicima i čepovima), zbog štetnog učinka u osjetljivih pojedinaca (6). U radnika, koji su izloženi buci ekvivalentne razine intenziteta veće od gornje upozoravajuće, rizik od oštećenja sluha je velik, i to neovisno o individualnoj osjetljivosti (13, 16). Stoga je, prema istome Pravilniku (6), poslodavac obavezan osigurati odgovarajuću opremu za zaštitu sluha uz preporuku o korištenju. Radnici koji su educirani o štetnom djelovanju buke i učinkovitosti antifona češće koriste osobnu zaštitnu opremu i potiču kolege na korištenje osobne zaštitne opreme (17 – 19). Rizik od oštećenja sluha bukom dodatno je smanjen u radnika koji koriste personalizirane antifone, jer ih koriste češće i načelo su zainteresirani za zaštitu sluha (20). Ušni čepovi i štitnici mogu se koristiti i simultano, optimalno štiteći sluh od buke vrlo visoke razine intenziteta (120 – 140 dB) (21). Atenuacija buke pomoću para antifona veća je u odnosu na izoliranu atenuaciju ušnim čepovima ili štitnicima, te iznosi 38 – 54 dB (22 – 24). Usprkos učinkovitosti antifona, zaštita osobnom opremom nije dovoljna. Eliminacija pojedinih izvora zvuka i primjena akustičkih barijera u bučnim postrojenjima većinski smanjuje rizik od oštećenja sluha. Osim tehničkih mjera, smanjenju rizika doprinose i organizacijske mjere: predviđanje broja radnika i radnih sati u bučnom radnom okolišu, osiguravanje odmora ili stanke u tihim prostorima, te rotacija radnika između radilišta s bukom i bez buke. Kombinirana primjena navedenih preventivnih mjera optimalan je izbor u zaštiti sluha (1, 25). Iako je provedba mjera većinom propisana zakonima

i podzakonskim aktima (4, 6, 26), nadzor provedbe mjera i redoviti nadzor buke temelj su očuvanja sluha i sigurnoga rada u buci.

Svrha procjene rizika i kontinuiranog zdravstvenog nadzora radnika suzbijanje je ozljeda na radu, bolesti vezanih uz rad i profesionalnih bolesti. Popis profesionalnih bolesti u Republici Hrvatskoj reguliran je Zakonom o listi profesionalnih bolesti (NN 162/1998) i Zakonom o izmjenama i dopunama Zakona o listi profesionalnih bolesti (NN 107/2007) (14, 15). Prema članku 2., točki 36. Zakona o izmjenama i dopunama Zakona o listi profesionalnih bolesti (NN 107/2007), naglušnost ili gluhoća uzrokovana bukom priznaje se kao profesionalna bolest (15), a dijagnostički postupak obuhvaća: radnu anamnezu i dokazivanje povezanosti izloženosti i bolesti, klinički pregled i provedbu dijagnostičkih metoda kojima se bolest objektivizira (27). Ekvivalentan dijagnostički postupak vrijedi i u dijagnosticiranju drugih bolesti čija se profesionalna etiologija razmatra (14). Broj priznatih profesionalnih bolesti u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2011. – 2022. oscilira, a u najvećoj mjeri bili su zabilježeni sindromi prenaprezanja, vibracijski sindromi šake i ruke te zarazne bolesti. U istome razdoblju, priznata je profesionalna etiologija u 36 radnika s naglušnošću ili gluhoćom uzrokovanom bukom, i to najviše 2014. kada ih je priznato šest. Broj profesionalnih bolesti, trajanje privremene radne nesposobnosti zbog profesionalnih bolesti, područja gospodarstvenih djelatnosti, zanimanja te obilježja oboljelih radnika (radni staž, stručna sprema, dob, spol) obuhvaćena su registrom profesionalnih bolesti. Registar profesionalnih bolesti i popratna analiza ozljeda na radu ažuriraju se jednom godišnje, a zaključci o bolestima, ozljedama, etiologiji i zahvaćenim gospodarstvenim djelatnostima, temelj su procjene zdravstvenog rizika cjelokupnog radno aktivnog stanovništva te sprječavanja i suzbijanja novih bolesti i ozljeda s profesionalnom etiologijom na nacionalnoj razini (28).

Uz procjenu općih rizika radnoga mjesta, komplementarno se procjenjuju i individualni rizici za rad nakon zdravstvenog pregleda i obilaska mjesta rada (29). Mjesto rada obilazi se:

- u predviđenim redovitim razmacima
- zbog povećanog apsentizma
- zbog dijagnosticirane profesionalne bolesti, bolesti vezane uz rad ili ozljede na radu

U obilasku mjesta rada minimalno sudjeluju liječnik i stručnjak za zaštitu i sigurnost na radu. Liječnik ocjenjuje radni okoliš kontrolnom listom te donosi plan mjera, kojim potom raspolažu stručnjak za zaštitu na radu, poslodavac, predstavnik radnika te članovi Odbora za zaštitu na radu (29).

Tijekom obilaska mjesta rada s bukom, liječnik prikuplja odgovore na sljedeća pitanja prema Kontrolnoj listi (30):

- Postoji li buka na mjestu rada zbog određenoga radnog procesa (npr. rad strojeva)?
- Postoji li buka na mjestu rada zbog prodiranja buke iz vanjskoga okoliša?
- Mjeri li se razina intenziteta buke na mjestu rada i udovoljava li standardima?
- Može li buka na mjestu rada prigušiti ili prikriti signale alarma?
- Je li buka na mjestu rada toliko jaka da radnik glasno komunicira?
- Komunicira li radnik glasnije nakon napuštanja mjesta rada?

Liječnik uspoređuje prikupljene podatke s podacima iz dokumenta procjene rizika i donosi zaključak o sukladnosti. Zaključivanje olakšavaju i podaci o prethodnoj izloženosti buci, koje su poslodavci obvezni čuvati. Prema Pravilniku o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu (NN 148/2023), članku 13., stavku 3., poslodavac mora čuvati isprave o zdravstvenoj sposobnosti radnika i podatke o mjerenjima buke na mjestima rada najmanje 40 godina, a ako prestane s djelatnošću, dužan ih je predati zavodu koji je nadležan za zaštitu zdravlja na radu (6). Prikupljeni podaci o izloženosti buci mogu se razlikovati od podataka iz radne anamneze pojedinog radnika. Liječnik procjenjuje relevantnost razlike i shodno tome ocjenjuje radnu sposobnost.

Prije početka rada u buci, kandidatima za posao u Republici Hrvatskoj obvezno se ispituje sluh radi utvrđivanja kontraindikacija za rad i ocjenjivanja radne sposobnosti (31). Nakon zapošljavanja sposobnih kandidata i redovitoga rada u buci, očekivana naglušnost umjerena je ili teška, a do pogoršanja sluha dolazi nekoliko puta ili kontinuirano tijekom profesionalne karijere (4). Stoga je prema točki 19. rad u buci, članka 3. Pravilnika o poslovima s posebnim uvjetima rada (NN 5/1984), predviđen prethodni pregled sluha i periodično ispitivanje praga sluha tonskom audiometrijom. Posebnost uvjeta rada u buci i drugih poslova popisanih Pravilnikom ne krije se u ekskluzivnosti poslova, nego u visokoj razini zdravstvenoga rizika. Istim pravilnikom propisane su kontraindikacije za rad, kao i rokovi za ponovnu ocjenu radne sposobnosti. Rok za ponovni pregled radnika koji rade u buci iznosi 24 mjeseca, dok su kontraindikacije za nastavak rada: umjerena ili teža oštećenja sluha zamjedbenoga tipa, preosjetljivost na buku, Meniereova bolest, bolesti središnjeg živčanog sustava i teži oblici psihoneuroze (31). Prema članku 36. Zakona o zaštiti na radu (NN 71/2014), upućivanje radnika na prethodni i periodični zdravstveni pregled zbog izloženosti buci obveza je poslodavca. Nakon dovršetka pregleda, radnik dobiva informaciju o vlastitom zdravstvenom stanju, a

poslodavac o radnoj sposobnosti zaposlenika (26). Ocjena radne sposobnosti temelji se na rezultatima dijagnostičkih testova za ispitivanje funkcije organa od interesa, odnosno utvrđivanju zdravstvene sposobnosti. Zdravstvena sposobnost određena je zdravstvenim zahtjevima radnih mjesta, koji su propisani Pravilnikom o poslovima s posebnim uvjetima rada (NN 5/1984) (31). Odabir dijagnostičkih testova za evaluaciju zdravstvene sposobnosti nije propisan pravnim aktima, ali proizlazi iz propisanih zdravstvenih zahtjeva. Odabir testova temelji se na suvremenim medicinskim spoznajama o probiru i dijagnostici zdravstvenih poremećaja koji mogu narušiti sposobnost za rad u tzv. posebnim uvjetima. Stoga, revizija popisa testova ne zahtijeva pravnu raspravu, nego upotrebu valjanih, pouzdanih, osjetljivih i specifičnih testova u prevenciji bolesti. Pouzdani testovi daju ponovljive rezultate, a valjani testovi točno mjere određenu pojavu, stanje ili bolest (32, 33). Valjani testovi osjetljivi su i specifični testovi, odnosno učinkovito diferenciraju zdrave od bolesnih osoba (33), odnosno radnike s niskim rizikom od radnika s visokim rizikom od poremećaja s profesionalnom etiologijom.

Kontrola rizika radnih mjesta učinkovito se uspostavlja izmjenama i dopunama relevantnih pravnih akata o izloženosti profesionalnim rizičnim čimbenicima, npr. Pravilnikom o zaštiti radnika od izloženosti opasnim kemikalijama na radu, граниčnim vrijednostima izloženosti i biološkim граниčnim vrijednostima (NN 91/2018) (34), Pravilnikom o zaštiti na radu radnika izloženih statodinamičkim, psihofiziološkim i drugim naporima na radu (NN 73/2021) (35) i Pravilnikom o uvjetima i mjerama zaštite od ionizirajućeg zračenja za obavljanje djelatnosti s izvorima ionizirajućeg zračenja (NN 53/2018) (36). Pravilnik o poslovima s posebnim uvjetima rada (NN 5/1984) nije izmijenjen u posljednjih 40 godina, što naglašava važnost revizije komplementarnih propisa u unaprjeđenju sigurnosti i zaštite zdravlja radnika (31). Stoga je razvijen i pravni okvir za intenziviranje zdravstvenoga nadzora radnika koji rade u buci izvan Pravilnika o poslovima s posebnim uvjetima rada (NN 5/1984). Radi se o Pravilniku o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu (NN 148/2023) – članak 13., stavak 2. – u kojem je određeno da su poslovi na kojima je radnik izložen buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A) (gornja upozoravajuća vrijednost) poslovi s posebnim uvjetima rada (6). Prethodnim Pravilnikom o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu (NN 46/2008), također je bila određena minimalna ekvivalentna razina intenziteta buke u radnom okolišu u svrhu klasifikacije rada u buci kao posla s posebnim uvjetima rada, a iznosila je 87 dB(A) (37). Nasuprot tome, prema Pravilniku o poslovima s posebnim uvjetima rada (NN 5/1984), minimalna ekvivalentna razina intenziteta buke u radnom okolišu bila je još viša, a time i

obuhvat nadziranih radnika manji. Naime, prema članku 3., točki 19. rad u buci, propisan je zdravstveni nadzor radnika koji su izloženi buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 90$  dB(A) (31). Dakle, zbog razlike od 5 dB(A) između dvaju trenutno važećih pravilnika (6, 31), zdravstveni je nadzor sluha u radnika koji rade u buci proširen i unaprijeđen. U predmetnom slučaju, unaprjeđenje prevencije proizlazi iz usklađivanja sa suvremenim medicinskim spoznajama, ali i s odredbama Direktive 2003/10/EZ Europskog parlamenta i Vijeća o minimalnim zdravstvenim i sigurnosnim zahtjevima zbog rizika koji proizlaze iz izloženosti radnika fizikalnim čimbenicima – buci (38).

Uspješnost primjene odredbi novoga Pravilnika o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu (6) temelji se na redovitom i standardiziranom mjerenju buke na mjestima rada te kontinuiranoj reviziji dokumenta procjene rizika. Istraživanje koje je provedeno prije gotovo 30 godina, ukazalo je na manjkavosti sustava izrade dokumenta procjene rizike u Republici Hrvatskoj (39), što dijelom potvrđuje i istraživanje iz 2016. godine (41). U navedenom istraživanju raspravljani su sljedeći zaključci o poteškoćama pri izradi dokumenta procjene rizika:

- stručni tim za izradu procjene rizika u velikim tvrtkama nije interdisciplinaran
- u izradi dokumenta ne sudjeluje liječnik
- poslodavac samostalno izrađuje dokument za vlastite potrebe – bez ovlaštenih osoba
- ne unose se podaci o ozljedama na radu i profesionalnim bolestima
- kategorije vjerojatnosti i veličine štetne posljedice u matrici procjene rizika nisu apsolutno primjenjive za sve rizične čimbenike i poremećaje s profesionalnom etiologijom

Također, prema Pravilniku o izradi procjene rizika (NN 112/2014) poslodavac nije obavezan periodično ažurirati dokument procjene rizika (4), što dodatno narušava kvalitetu procijenjenog rizika. Ipak, u Pravilniku o izmjenama i dopunama Pravilnika o izradi procjene rizika (NN 129/2019) istaknuta je važnost periodičnog ocjenjivanja provedbe preventivnih mjera, što ocjenjuje poslodavac. Uloga nadležnog specijalista medicine rada i sporta u izradi dokumenta ostala je nepromijenjena, odnosno u ulozi priključenog „stručnjaka iz pojedinih područja“ s kojim poslodavac surađuje prema potrebi, a ne obavezno (5).

Rastući izazov u ocjenjivanju sposobnosti radnika koji rade u buci jest povećana učestalost i pojavnost oštećenja sluha bukom (1). Građevinski i šumski radnici, radnici u prerađivačkoj industriji i cestogradnji, glazbenici, poljoprivrednici, vojnici i rudari obavljaju

posao uz visok rizik od oštećenja sluha zbog redovitog izlaganja buci visokoga intenziteta (2, 41). Osim buke na mjestu rada, oštećenju sluha doprinosi i izloženost izvan mjesta rada (42). U razvijenim zemljama, izloženost buci izvan mjesta rada također je u porastu, a odnosi se na čestu upotrebu slušalica za slušanje glazbe, odlaske na bučne koncerte, sportska natjecanja i druga zabavna događanja (42 – 44). Kada se sluh ošteti, radnik više ne može rukovati ili upravljati bučnim uređajima i strojevima na siguran način, izbjegava bučna događanja i teško pronalazi novi posao (45). Nerijetko se žali na šum u ušima i slušnu preosjetljivost te otežano komunicira zbog naglušosti. Profesionalno oštećenje sluha bukom većinom je obostrano i zamjedbeno. Razvoj oštećenja sluha određen je genskim čimbenicima i akustičkim svojstvima štetne buke. Dulja izloženost, veća razina intenziteta i prisustvo impulsne buke na mjestu rada povezani su s bržim oštećenjem i ranijim razvojem naglušosti (2, 13, 41). Prema algoritmu dijagnostičkog postupka za utvrđivanje profesionalne bolesti uzrokovane bukom (27), profesionalna etiologija razmatra se u radnika s:

- ukupnim gubitkom sluha od barem 20 %
- višegodišnjom izloženošću buci na mjestu rada, čija je ekvivalentna razina intenziteta  $\geq$  85 dB(A)

Ukupni gubitak sluha binauralni je gubitak sluha u području govornih frekvencija, izračunat prema Fowleru i Sabineu te izražen u postocima. O izloženosti buci na mjestu rada očituju se radnik i poslodavac, i to podnošenjem zasebnih pisanih izjava. Utvrđivanje profesionalne etiologije akustičke traume ili kroničnoga oštećenja sluha dovršava se priznavanjem ozljede na radu ili profesionalne bolesti, čime je radniku omogućeno ostvarenje posebnih prava iz obveznog zdravstvenog osiguranja i prilagodba radnog mjesta na temelju Zakona o zaštiti na radu (NN 71/2014) (26) i Pravilnika o pravima, uvjetima i načinu ostvarivanja prava iz obveznog zdravstvenog osiguranja u slučaju ozljede na radu i profesionalne bolesti (NN 75/2014) (46).

Učinak buke na pužnicu kumulativan je i trajan, a odnosi se na gubitak stereocilija, apoptozu i nekrozu osjetnih stanica Cortijeva organa, te ožiljkavanje visokospecijaliziranog tkiva. Sekundarno degeneriraju i periferni aksoni bipolarnih neurona spiralnoga ganglija pužnice, čime je onemogućen prijenos zvučne informacije, odnosno bioelektričnog signala duž slušnoga živca (41, 47, 48). Teški metali (olovo, kadmij) i industrijske kemikalije (toluen, ksilen, stiren, ugljikov disulfid) potenciraju štetan učinak buke na unutarnje uho i doprinose gubitku sluha (49 – 51).



Povećanje praga sluha na tonskom audiogramu korelira sa stupnjem navedenih staničnih oštećenja (52, 53). U radnika s oštećenjem sluha bukom, prag je inicijalno povećan u području visokih frekvencija (3 – 6 kHz), a kasnije i u području govornih frekvencija (2). Zlatni standard za dijagnosticiranje naglušosti jest tonska audiometrija (54). Povećanje praga sluha iznad 25 dB(A) unutar govornih frekvencija označava naglušost, a iznad 81 dB(A) tešku naglušost i gluhoću (55). Ipak, tonska audiometrija ima razvidna ograničenja u dijagnosticiranju ranoga oštećenja sluha bez pomaka praga sluha. Radi se o tzv. skrivenome oštećenju sluha (engl. *Hidden Hearing Loss*, HHL), koji je uzrokovan gubitkom sinapsi između osjetnih stanica pužnice i vlakana slušnoga živca (47, 56, 57). Prema posljednjim istraživanjima na miševima i zamorcima, gubitak sinapsi zbog izloženosti buci nije nepovratan. Neurotrofin-3 čimbenik je rasta koji može potaknuti sinaptogenezu nedugo nakon sinaptopatije, a terapijski potencijal predmet je aktualnih istraživanja. Naime, regeneracija kohlearnih sinapsi i povećanje gustoće sinapsi u životinja dokazani su mikroskopskim i elektrofiziološkim metodama (58, 59).

U HHL-u zbog buke, vlakna slušnoga živca degeneriraju određenom dinamikom. Najprije degeneriraju vlakna s visokim pragom podražaja, a zatim i vlakna s niskim pragom podražaja. Uloga vlakana s visokim pragom podražaja jest razlučivanje slušnih informacija (47). Kada su oštećena, vremenska razlučivost primljenih podražaja opada, te je razumijevanje govora u buci otežano. Osim kontinuirane i impulsne buke, drugi uzročni čimbenici kohlearne sinaptopatije su: starenje, niske doze aminoglikozida i periferna neuropatija u Guillan-Barreovu sindromu ili Charcot-Marie-Toothovoj bolesti. Osobe s navedenim neuropatijama otežano komuniciraju u buci, a uzrok poteškoća stanjena je mijelinska ovojnica, što također smanjuje vremensku razlučivost slušnih informacija (56).

Učestalost samoprocijenjenih slušnih poteškoća u odraslih s urednim audiogramom iznosi 12 – 15%. Većinom se radi o šumu u ušima i drugim zamjedbenim smetnjama sluha, poput slušne preosjetljivosti i otežanoga razumijevanja govora u buci (60). Budući da zlatni standard u dijagnostici HHL-a u ljudi ne postoji, ne postoje ni jasni dijagnostički kriteriji (54, 56). Procjena HHL-a zasniva se na samoprocjeni slušnih poteškoća, a procjena rizika od oštećenja sluha na podacima o izloženosti buci.

Elektrofiziološke metode probira i dijagnosticiranja HHL-a u ljudi eksperimentalne su i nemaju kliničku primjenu zbog nedovoljne pouzdanosti, osjetljivosti i specifičnosti. Radi se o ispitivanju kohleostapesnog refleksa, otoakustičke emisije distorzirane frekvencije (engl. *Distortion Product Otoacoustic Emission*, DPOAE) i evociranih slušnih potencijala moždanoga debla (engl. *Auditory Brainstem Response*, ABR) (54, 56).

Kohleostapesni refleks fiziološki je refleks izazvan bukom visoke razine intenziteta i posredovan slušnim i ličnim živcem, te mišićima *stapedius* i *tensor tympani*. Izazvani refleks smanjuje prijenos prekomjerne mehaničke energije zvuka iz srednjega uha u unutarnje, štiteći pužnicu i slušni živac od oštećenja. Ipak, buka oštećuje vlakna slušnoga živca s visokim pragom podražaja, što smanjuje snagu kohleostapesnog refleksa. Slabljenje refleksa nađeno je u miševa s kohlearnom sinaptopatijom te u ljudi sa šumom u ušima (61 – 63).

Otoakustička emisija zvuk je koji nastaje u pužnici zdravih ljudi i životinja, prenosi se srednjim uhom do vanjskoga, gdje se registrira pomoću mikrofona. Nastaje u vanjskim stanicama s cilijama, koje se kontrahiraju nakon pobuđivanja pužnice zvučnim podražajem određene frekvencije. Kontrakcijom stanica amplificiraju se kretnje bazilarne membrane Cortijeva organa, čime se pojačava aktivacija slušnih receptora, odnosno unutarnjih stanica s cilijama (47, 64). U odnosu na unutarnje stanice, vanjske stanice s cilijama osjetljivije su na buku te prije odumiru. Gubitak vanjskih stanica s cilijama ireverzibilan je, te uzrokuje povećanje praga sluha na tonskom audiogramu za 40 – 60 dB (65). Apoptozi i nekrozi vanjskih stanica s cilijama prethodi disfunkcija, koja je dobro istražena u životinja s kohlearnom sinaptopatijom te u ljudi sa HHL-om zbog buke. Vijabilne vanjske stanice s cilijama emitiraju tzv. otoakustičku emisiju, koja se može evocirati zvučnim podražajima. U HHL-u, amplituda otoakustičke emisije može biti smanjena, što neposredno ukazuje na disfunkciju stanice, a posredno i na potencijalni gubitak sinapsi između unutarnjih stanica s cilijama i vlakana slušnoga živca (52, 66). Metoda kojom se otoakustička emisija najčešće ispituje naziva se DPOAE, a naziv duguje distorziranoj frekvenciji u odnosu na frekvencije dvaju zvučnih podržaja koji je pobuđuju. Drugim riječima, radi se o evociranome zvuku vanjskih stanica s cilijama, čija se frekvencija može prikazati kao linearna kombinacija frekvencija dvaju zvučnih podržaja (67).

Nepouzdanost navedenih eksperimentalnih metoda proizlazi iz visoke biološke varijabilnosti ispitivanih parametara, a nespecifičnost iz aditivnog učinka buke i drugih etioloških čimbenika kohlearne sinaptopatije. Manjak osjetljivosti pojedinih dijagnostičkih testova kompenzira se izradom baterija testova za procjenu kohlearne sinaptopatije (54, 68). Prednosti navedenih ispitivanja sadržane su u neinvazivnosti pristupa, validaciji na životinjskim modelima te objektivnosti podataka. Najpopularnija metoda za procjenu sinaptopatije u pužnici jest ispitivanje ABR-ova (54, 56, 62).

## 1.2. Evocirani slušni potencijali moždanoga debla

Evocirani slušni potencijali moždanoga debla objektivna su mjera funkcije slušnoga živca. Registriraju se pomoću površinskih elektroda koje se postavljaju u području čela i uha. Registrirane krivulje sadrže valove, od kojih se prvi (I), treći (III) i peti (V) najčešće analiziraju. U osoba s održanim prijenosom bioelektričnog signala, valovi se oblikuju u prvih 10 milisekundi od podraživanja, a opisuju se amplitudama i latencijama. Veličinu amplitude određuje broj pobuđenih živčanih vlakana slušnoga živca, uz uobičajeni raspon 0,1 – 1  $\mu$ V. Broj pobuđenih vlakana veći je nakon podraživanja zvukom više razine intenziteta, što rezultira porastom veličine amplitude. Duljina latencije odraz je brzine prijenosa bioelektričnoga signala, te se skraćuje s povećanjem razine intenziteta zvučnog podražaja. Slušni živac prenosi signal od pužnice do kompleksa kohlearnih jezgara i gornjeg olivarnog kompleksa u moždanome deblu. Dalje se prenosi lateralnim lemniskom do donjeg kolikula i medijalnoga koljenastog tijela, odakle akustičkom radijacijom dopijeva do primarne slušne moždane kore (47, 54, 56).

U kliničkim uvjetima, ABR-ovi se ispituju radi probira i dijagnosticiranja naglušosti u dojenčadi te dijagnosticiranja retrokohlearnih lezija. U dijagnosticiranju naglušosti, evociranjem ABR-ova pomoću različitih razina intenziteta zvučnih podražaja određuje se prag sluha, odnosno najniža razina intenziteta podražaja kojim se evocira peti val. U retrokohlearnim lezijama, poput akustičkoga neurinoma ili demijelinizacijskih lezija, prijenos bioelektričnog signala je usporen, a latencija petoga vala ABR-ova produljena. Sumnja na retrokohlearnu leziju standardno se potvrđuje ili odbacuje magnetskom rezonancijom (69 – 71).

Ispitivanje ABR-ova u eksperimentalnim uvjetima koristi se u procjeni kohlearne sinaptopatije i HHL-a. Većinom su evocirani tzv. klikom, koji opetovano pobuđuje pužnicu prema zadanoj stopi podraživanja. Klik je zvučni podražaj sa širokim spektrom frekvencija, koji stoga pobuđuje cijelu pužnicu, no s obzirom na tonotopiju pužnice, prvo bazalni zavoj, a zatim ostatak pužnice. Najranija oštećenja pužnice bukom nalaze se upravo u bazalnome zavoj, što objašnjava čestu primjenu klika u provedbi elektrofizioloških ispitivanja. Također, zbog tonotopije i dinamike pobuđivanja pužnice, klikom se ispituje i prag sluha na visokim frekvencijama, jer veličinu registriranoga signala dominantno određuje aktivnost bazalnoga zavoja pužnice (47). Cijela pužnica alternativno se pobuđuje prilagođenim zvučnim podražajem, tzv. *chirp*-om. Prilagodba zvučnoga podražaja usklađena je s tonotopijom pužnice, te se *chirp*-om istovremeno pobuđuje cijela pužnica, odaslani se bioelektrični signal amplificira, a registrirane se amplitude ABR-ova povećavaju (72). Također, ranije je utvrđena povezanost

između izloženosti buci na mjestu rada i ABR-ova evociranih *chirp*-om, ali ne i klikom (73). Stoga je, osim odabira baterije testova u probiru i dijagnosticiranju HHL-a, važno razmotriti i set zvučnih podražaja kojima se evociraju ABR-ovi. Zvučni podražaji općenito su određeni: frekvencijom, razinom intenziteta, duljinom trajanja i stopom podraživanja. Većinom su kratkoga trajanja, učestalo se ponavljaju, a sukladno odabiru pojedine frekvencije ili spektra frekvencija mogu se koristiti u ispitivanju praga sluha pri niskim ili visokim frekvencijama (74).

Izraženost kohlearne sinaptopatije uzrokovane bukom dobro je istražena u glodavaca, u kojih je nađena korelacija između smanjenoga broja sinapsi i smanjene amplitude prvoga vala ABR-ova (52, 75). Povezanost između kohlearne sinaptopatije i smanjenja amplitude prvoga vala ABR-ova u ljudi slabija je nego u glodavaca jer se ne temelji na analizi bioptata tkiva i brojanju sinapsi kao u glodavaca, nego na samoprocijenjenoj ili izmjerenoj razini intenziteta buke. Stoga se istraživanja kohlearne sinaptopatije u ljudi temelje na ispitivanju razlika u amplitudi prvoga vala ABR-ova između skupina ljudi s visokim i niskim rizikom od oštećenja sluha bukom uz kontrolu inter- i intraindividualne varijabilnosti amplituda (76 – 78). Varijabilnost amplituda kontrolira se standardizacijom uvjeta ispitivanja (mikroklimatski uvjeti, položaj elektroda, trajanje i modalitet ispitivanja), te izračunom omjera amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova (54). Promjene veličine amplitude petoga vala ABR-ova nisu povezane s izloženošću buci (76), a odabirom omjera valova u odnosu na samostalnu amplitudu prvoga vala ABR-ova eliminira se utjecaj položaja elektroda i veličine glave na interindividualnu razliku u amplitudama. Usprkos eliminaciji interindividualne varijabilnosti, rezultati istraživanja nisu konzistentni u smislu povezanosti amplitude prvoga vala ABR-ova i HHL-a. Drugim riječima, nerijetko su uočene zanemarive razlike u amplitudi prvoga vala ABR-ova između skupina ljudi s različitim razinama rizika od oštećenja sluha, što ograničava primjenu ABR-ova u probiru i dijagnostici radnika sa HHL-om (54).

### 1.3. Kortizon u slini

Izloženost ljudi buci povezana je s povećanim izlučivanjem hormona stresa, porastom sistoličkog i dijastoličkog arterijskog tlaka, razvojem želučanog i duodenalnog ulkusa, razvojem akustičkog neurinoma, smanjenom koncentracijom, nesanicom i promjenama raspoloženja. Radi se o tzv. ekstraauditivnim učincima buke, odnosno učincima koji se ne odnose na oštećenje slušnih receptora bukom. Iako je povezanost izloženosti buci s navedenim učincima slaba, doprinos buke u razvoju navedenih multifaktorijalnih poremećaja jest značajan (79 – 82).

Endokrini ekstraauditivni učinci buke odnose se na povećano izlučivanje kortizola, adrenalina i noradrenalina iz nadbubrežne žlijezde zbog aktivacije simpatičkog živčanog sustava i osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda. Buka, dakle, djeluje kao stresor, a povećanje koncentracije kortizola i katekolamina veće je u osoba s većom izloženošću buci (82, 83). U kroničnom stresu kortizol se kontinuirano odlaže u dlačne folikule, što kosu čini pogodnim biološkim medijem za određivanje dugotrajno povećane sekrecije kortizola (84 – 87).

Minimalna razina intenziteta buke koja uzrokuje povećanje koncentracije kortizola iznosi 55 dB(A) (82). Povećanje koncentracije može se utvrditi odmah nakon prekida izloženosti ili kasnije. U uzorku sline, u kojem je povećana koncentracija kortizola određena neposredno nakon izlaganja buci, endokrini učinak buke nije dvojbena (88). Međutim, u uzorcima sline koji se uzorkuju kasnije, povećanje koncentracije kortizola posljedica je izloženosti buci i drugim stresorima, poput psihičkih napora. Psihički naponi utvrđuju se pomoću upitnika, a povezanost između samoprocijenjenih podataka i koncentracije kortizola je dvojbena. Ljestvica doživljenoga stresa (engl. *Perceived Stress Scale*, PSS) često je korišten upitnik u analizi psihičkih napora koji proizlaze iz tjeskobnih misli i osjećaja, a rezultat ispunjenoga upitnika jest razina stresa (89, 90). U istraživanju Mikkelsena i suradnika (89), razina stresa nije korelirala s koncentracijom kortizola u slini, dok je prema Walvekaru i suradnicima (90), korelacija između razine stresa i koncentracije kortizola u serumu bila pozitivna. Prema istraživanju Planerta i suradnika (86), dugotrajna izloženost psihosocijalnim naporima na mjestu rada u 1258 radnika u zrakoplovnoj tvrtki nije bila povezana s koncentracijom kortizola u kosi, dok je prema La Marci i suradnicima (87), povezanost s kortizolom u kosi bila uočena. Na slabost i nestalnost korelacije između podataka o stresu i koncentracije kortizola utječe samoprocjenjivanje, razina stresa, koncentracija kortizola, odabir analitičke metode, broj sudionika, broj ponovljenih mjerenja po sudioniku, te odabir upitnika.

Primjerice, u istraživanju Mikkelsena i suradnika (89), korišten je upitnik PSS sa 4 čestice, a u istraživanju Walvekara i suradnika (90), verzija upitnika PSS sa 14 čestica.

Prethodno je utvrđeno da je povećanje koncentracije kortizola u slini uzrokovano kratkotrajnom izloženošću buci, i to vrlo brzo nakon prekida izloženosti. U osoba koje su bile izložene buci razine intenziteta 90 dB tijekom 20 minuta, te čija je slina uzorkovana 10 minuta nakon prestanka izloženosti, zabilježeno je značajno povećanje koncentracije kortizola. Također, nakon izloženosti buci, koncentracija kortizola bila je značajno veća u istih izloženih osoba u odnosu na kontrolne sudionike (88). Prethodno je dokazana i snažna korelacija između koncentracije kortizola u plazmi i koncentracije kortizola u slini (91), što ukazuje na valjanost određivanja koncentracije kortizola u slini. Međutim, slina nije optimalan medij za analizu. Osobe koje uzimaju oralne kortikosteroidne lijekove mogu imati lažno povećane vrijednosti koncentracije kortizola u slini, a postoje i ograničenja analitičke metodologije pri određivanju niskih koncentracija kortizola u slini i razlučivanju analita od koekstrahiranih interferencija (91, 92).

U procjeni endokrinih učinaka buke, slina se pokazala kao pogodan medij za analizu (93). Neinvazivno se prikuplja, a uzorkovanje je jednostavno ponoviti. Slina se većinom uzorkuje pomoću posebno dizajniranih nosača, koji apsorbiraju slinu u usnoj šupljini. Postupak uzorkovanja je jednostavan, iako zahtijeva suradnju s pacijentom/sudionikom istraživanja, odnosno prethodnu pripremu usne šupljine – suzdržavanje od hrane, pića i pranja zubi – te uzorkovanje u određeno vrijeme. Nosač sline potom se centrifugira, a supernatant se analizira. Prema Garde i suradnicima, centrifugirani uzorci sline mogu se čuvati do 3 mjeseca na 5 °C ili barem godinu dana pri temperaturi između –20 i –80 °C bez utjecaja na koncentraciju kortizola. Čuvanjem centrifugiranih uzoraka na sobnoj temperaturi, koncentracija kortizola smanjuje se za 9,2 % tijekom godine dana (94).

Povećana koncentracija kortizola može se mjeriti u krvi/krvnoj plazmi/serumu, urinu i slini pomoću sljedećih laboratorijskih metoda:

- imunoenzimski test (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) (95)
- radioimunotest (engl. *Radioimmunoassay*, RIA) (96, 97)
- tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) (98 – 100)
- vezani sustav tekućinske kromatografije i tandemске spektrometrije masa (engl. *Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry*, LC-MS/MS) (101 – 103)

Metode ELISA i RIA zasnivaju se na reakciji vezanja protutijela i steroida. No, zbog visoke križne reaktivnosti protutijela i steroidnih spojeva slične strukture, obje metode relativno su nespecifične za analizu pojedinih steroida. Specifičnost metode HPLC za analizu steroida veća je nego u metoda ELISA i RIA zbog različite polarnosti spojeva, te njihovog sorpcijskog afiniteta i intenziteta apsorpcije ultraljubičastog zračenja, dok je osjetljivost navedenih metoda podjednaka. Metoda LC-MS/MS visoko je specifična i osjetljiva metoda s nedvojbenu identifikacijom spojeva, te je ujedno i najbolja metoda za analizu pojedinih steroida u slini (91).

Kromatografija je analitička metoda kojom se odjeljuju, identificiraju i kvantificiraju komponente u smjesi. Komponenta od interesa u uzorku ili matrici naziva se analit (104).

Tijekom analize komponenata kromatografijom, komponente se odjeljuju između pokretne ili mobilne i nepokretne ili stacionarne faze. Pokretna faza kreće se u određenome pravcu, npr. kroz kolonu, noseći smjesu komponenata. Nepokretna faza čvrsta je tvar vezana na stijenku kolone na čijoj se površini komponente zadržavaju. Raspodjela komponenata između pokretne i nepokretne faze je konstantna, odnosno određena je koeficijentom raspodjele. Vrijeme zadržavanja ili retencijsko vrijeme analita indirektna je mjera raspodjele komponenata u kromatografskom sustavu. Karakteristika je pojedinog analita, a odnosi se na vrijeme koje je potrebno da analit stigne do detektora instrumenta nakon injektiranja uzorka u sustav. Prve komponente koje napuštaju sustav najdulje su prisutne u pokretnoj fazi. Zadržavanje komponenata na nepokretnoj fazi je selektivno, odnosno ovisi o polarnosti komponenata i uvjetima pH u sustavu. Eluiranje je ispiranje analita s nepokretne faze pomoću otapala ili eluensa koji se odabire ovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima analita i nepokretne faze. U plošnoj kromatografiji, nepokretna faza nalazi se na ravnoj podlozi, pri čemu pokretna faza nosi komponente uzorka duž nepokretne faze djelovanjem kapilarnih sila. U kromatografiji u koloni, pokretna faza s komponentama uzorka nošena je tlakom kroz usku cijev ili kolonu koja je ispunjena nepokretnom fazom. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) metoda je u kojoj smjesa otapala pod visokim tlakom nosi komponente uzorka preko sorbensa vezanog u kromatografskoj koloni do detektora, najčešće ultraljubičastog detektora s nizom fotodioda (104).

Analizi uzorka kromatografijom prethodi kalibracija mjernoga sustava. Rezultat kalibracije je kalibracijski dijagram ovisnosti odziva detektora o koncentraciji analita. Koncentracija analita u uzorku računa se u području linearne ovisnosti. Odabir kalibracijske metode ovisi o stabilnosti uzorka i očekivanom utjecaju interferencija iz matrice na odziv detektora za analit. Kada je utjecaj matrice na analit zanemariv, kalibracijska metoda vanjskoga

standarda metoda je izbora, te se kalibracijski pravac konstruira analizom niza standardnih otopina poznate koncentracije analita. Kada je utjecaj matrice na odziv detektora značajan ili je volumen uzorka promjenjiv (npr. zbog hlapljivosti), kalibracijska metoda unutarnjega standarda metoda je izbora. U odnosu na vanjski standard, unutarnji standard kemijski se razlikuje od analita. Njegov odziv na detektoru istovremeno se mjeri s odzivom analita, čime se kompenzira promjenjivost uvjeta mjerenja. Budući da je koncentracija unutarnjeg standarda u uzorku i standardnim otopinama jednaka, za kalibracijski dijagram koristi se omjer signala analita i unutarnjega standarda (105).

Izvedbene značajke kromatografske metode su: preciznost, točnost, osjetljivost i specifičnost. Preciznost metode podudarnost je nezavisnih rezultata ispitivanja provedenih iz istog homogenog uzorka u zadanim uvjetima, a prikazuje se kao standardno odstupanje ili varijanca. Točnost je značajka mjernoga procesa kojom se kvantificira podudarnost s pravom vrijednosti mjerenja. Mjerenje je netočno kada je uzrokovano sustavnom pogreškom. Granica detekcije kritična je vrijednost pri kojoj se signal komponente uzorka razlikuje od pozadinskog šuma instrumenta. Granica kvantifikacije najmanja je količina analita koja se pouzdano može kvantificirati. Osjetljivost metode određena je granicama kvantifikacije i detekcije. Specifičnom kromatografskom metodom uspješno se određuje analit u prisutnosti drugih sastojaka smjese (105).

U prethodnim istraživanjima endokrinih učinaka buke, slina je uzorkovana ujutro u odabrano vrijeme, neposredno nakon ili pola sata nakon jutarnjega buđenja, prije posla, prije ručka, nakon rada u buci ili prije spavanja. Povećanjem broja uzoraka sline, koje pojedina osoba uzorkuje u isto vrijeme, pouzdanost mjerenja raste, i to različitom dinamikom ovisno o vremenu uzorkovanja sline. Pouzdanost mjerenja najveća je kada se određuje ukupna dnevna sekrecija kortizola ili fiziološko povećanje jutarnje koncentracije kortizola računanjem površine ispod krivulje cjelodnevne sekrecije ili krivulje jutarnjega povećanja. Naime, koncentracija kortizola niska je neposredno nakon buđenja, brzo raste unutar pola sata od buđenja pa zatim postupno pada tijekom dana. Ako je osoba kronično izložena stresorima, dnevni pad koncentracije kortizola je usporen. S obzirom na to da izrada diurnalnog profila izlučivanja kortizola zahtijeva brojna uzorkovanja sline tijekom jednog ili više dana, nepraktičnost pristupa može rezultirati smanjenom suradljivošću pacijenata/sudionika istraživanja. Stoga je pouzdanost mjerenja koncentracije kortizola zadovoljavajuća i nakon uzorkovanja sline u jedno odabrano vrijeme u danu, i to tijekom najmanje 2 – 3 uzastopna dana. Veći broj uzastopnih dana, kada se uzorkuje



slina u odabrano vrijeme, dodatno povećava pouzdanost mjerenja, te kompenzira veliku biološku intraindividualnu varijabilnost u izlučivanju kortizola (106).

Prethodno je istražen kronični stres zbog izloženosti buci zrakoplova razine intenziteta manje od gornje upozoravajuće vrijednosti analizirajući promjene u koncentraciji kortizola. Radi se o buci kojoj su kontinuirano bili izloženi obližnji stanovnici sedam velikih europskih zračnih luka u šest zemalja, pri čemu je prosječna razina intenziteta bila  $> 60$  dB(A) ili  $50 - 69$  dB(A), ovisno o zračnoj luci. Slina je bila uzorkovana neposredno nakon i pola sata nakon buđenja, u vrijeme ručka i prije spavanja (107, 108). U istraživanju Baudina i suradnika nađena je pozitivna korelacija između izloženosti buci zrakoplova i večernje koncentracije kortizola u slini, i to samo u žena (107). U istraživanju Selandera i suradnika također je nađena pozitivna korelacija između izloženosti buci zrakoplova i koncentracije kortizola u slini. No, radilo se o jutarnjoj koncentraciji kortizola, i to ponovno samo u žena (108). U oba spomenutim istraživanjima, nije nađena povezanost između izloženosti buci i koncentracije kortizola u slini u muškaraca (107, 108), što se ne može objasniti razlikama u stresnoj reakciji na buku između spolova, nego drugim karakteristikama sudionika koje nisu neposredno vezane uz spol ili nisu opisane u spomenutim istraživanjima. Primjerice, poremećaj arhitekture sna mijenja diurnalnu krivulju izlučivanja kortizola smanjujući fiziološko naglo povećanje jutarnje koncentracije kortizola, te zaravnavajući nagib dnevnoga pada koncentracije kortizola (109, 110), što bi moglo utjecati na razliku u nalazima između navedenih istraživanja. Također, u oba istraživanja (107, 108) slina je uzorkovana samo jednom u odabrana vremena u danu, što smanjuje pouzdanost mjerenja koncentracije kortizola u pojedinom istraživanju. U istraživanju Stokholma i suradnika ispitan je učinak buke u radnome okolišu na promjenu koncentracije kortizola u slini. Buka je bila mjerena osobnim dozimetrima, te je razina intenziteta bila manja od razina gornje upozoravajuće vrijednosti. Raspon izmjerenih razina bio je  $75 - 85$  dB(A). Slina je bila uzorkovana navečer te neposredno nakon i pola sata nakon buđenja. Nije bila uočena korelacija između izmjerene buke i koncentracija kortizola mjerenih u različita doba dana, što je dijelom povezano s korištenjem antifona i smanjenim endokrinim učinkom buke (111). Dakle, podaci o učincima dugotrajne izloženosti buci na koncentraciju kortizola u slini nisu konzistentni između istraživanja.

U kliničkim uvjetima, koncentracija kortizola u slini određuje se u pacijenta sa sumnjom na smanjeno ili povećano izlučivanje kortizola, odnosno adrenalnu insuficijenciju ili Cushingov sindrom. Etiologija Cushingova sindroma razlikuje se ovisno o sijelu hiperproducirajuće lezije (hipofiza, nadbubrežna žlijezda, drugi organ). Vrstu Cushingova sindroma nije moguće utvrditi

određivanjem koncentracije kortizola u slini, već deksametazonskim testom i slikovnom dijagnostikom. Klinički znakovi Cushingova sindroma u oboljelih su:

- okruglo lice i povećan opseg trupa
- smanjen opseg udova
- nakupina masti u supraklavikularnim jamama i u području šije
- tanka i osjetljiva koža, usporeno cijeljenje rana
- ljubičaste strije u području trbuha i bedara
- smetnje menstrualnog ciklusa

Iako je prethodno utvrđena pozitivna korelacija između izloženosti buci i koncentracije kortizola, ne postoje podaci o razvoju Cushingova sindroma zbog izloženosti buci, što je vjerojatno posljedica relativno nižih koncentracija kortizola u radnika izloženih buci nego u bolesnika s Cushingovim sindromom (112, 113).

Relativno malo povećanje koncentracije kortizola u osoba koje rade u buci zahtjevno je odrediti s obzirom na očekivano male koncentracije u apsolutnim vrijednostima. Stoga se alternativno može odrediti sličan steroid – kortizon – čija koncentracija u slini snažno korelira s koncentracijom kortizola u krvi (slobodnim i ukupnim). Također, radi se o hormonu čija je koncentracija u slini oko 4 puta veća u odnosu na kortizol, što olakšava primjenu laboratorijskih metoda u kvantifikaciji kortizona (91, 92).

Kortizon dospijeva u slinu iz krvne plazme difundirajući kroz acinusne stanice žlijezda slinovnica. Istim putem difundira i slobodni kortizol, koji se u acinusnim stanicama konvertira u kortizon pomoću  $11\beta$ -hidroksisteroidne dehidrogenaze tipa 2. Kortizon i kortizol u plazmi većinom su vezani za proteine plazme (95 %) – globulin koji veže kortizol (engl. *Cortisol-binding Globulin*, CBG), albumin i  $\alpha$ -1 glikoprotein. Manji je udio (5 %) u ukupnoj serumskoj koncentraciji kortizola i kortizona slobodan, te difundira ili se kemijski mijenja. Osim u žlijezdama slinovnicama, kortizol se enzimski konvertira u kortizon u bubrezima (91, 114). Također, kortizon se može biotransformirati u kortizol u jetri pomoću enzima  $11\beta$ -hidroksisteroidne dehidrogenaze tipa 1, te indirektno djelovati imunosupresivno i protuupalno. Kako kortizol ne zahtijeva prethodnu biotransformaciju, češći je izbor u liječenju lokalnih i sustavnih upalnih poremećaja (115).

U osoba koje koriste oralne terapijske pripravke na bazi kortizola/hidrokortizona, koncentracija kortizola u slini može biti lažno povećana pa je bolje određivati koncentraciju

kortizona u slini (92). Iako je LC-MS/MS metoda s optimalnom osjetljivošću i specifičnošću u analizi kortizona (91), kortizon i kortizol mogu se simultano odrediti i pomoću metode HPLC (100).

Iako se endokrini i auditivni učinci buke razvijaju istovremeno, prethodno nisu istraženi statistički modeli za predviđanje HHL-a zbog buke pomoću biljega auditivnih i ekstraauditivnih učinaka. Stoga je svrha ovoga istraživanja ispitati ulogu koncentracije kortizona u slini i omjera amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova u procjeni rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha i zdravstvenom nadzoru mladih odraslih radnika izloženih buci.

## **2. HIPOTEZA**

Rano oštećenje sluha bukom pozitivno je povezano s koncentracijom kortizona u slini i negativno povezano s omjerom amplitude prvog i petog vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u osoba izloženih buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A).

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

#### **3.1. Opći cilj**

Opći cilj istraživanja jest utvrđivanje povezanosti ranoga oštećenja sluha bukom s koncentracijom kortizona u slini i s omjerom amplituda prvoga i petoga vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u osoba izloženih buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A).

#### **3.2. Specifični ciljevi**

1. kvantifikacija rizika od oštećenja sluha na temelju samoprocijenjene izloženosti buci
2. utvrđivanje doživljenog stresa i psihosocijalnih rizičnih čimbenika na mjestu rada te utvrđivanje njihove povezanosti s koncentracijom kortizona u slini
3. utvrđivanje povezanosti omjera amplituda prvoga i petoga vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla s koncentracijom kortizona u slini
4. jezična validacija Megersoninog upitnika za probir mladih odraslih osoba s visokim rizikom od oštećenja sluha bukom, prevedenog na hrvatski jezik

## 4. SUDIONICI I METODE

### 4.1. Sudionici

#### 4.1.1. Procjena rizika od oštećenja sluha bukom i probir sudionika

U istraživanje su bila uključena 104 (60 muških i 44 ženskih) sudionika u dobi 19 – 30 godina, od kojih su 50 bili radnici izloženi buci i 54 studenti kao kontrolni sudionici. Radnici su bili profesionalni glazbenici ( $N = 29$ ) i zaposlenici u građevinskoj ili prerađivačkoj industriji ( $N = 21$ ). Prema navodima sudionika i stručnjaka za zaštitu i sigurnost na radu, radnici su bili izloženi buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A) na mjestu rada 1 – 2 godine, te nisu bili izloženi ototoksičnim kemikalijama: ugljikov disulfid, ksilen i stiren. Svi sudionici prethodno nisu imali: kroničnu upalu srednjega uha, iznenadni gubitak sluha, operaciju uha te vrtoglavicu povezanu s gubitkom sluha ili šumom u ušima. Tijekom provedbe istraživanja sudionici nisu koristili oralne ili intranazalne kortikosteroidne lijekove.

U odnosu na kontrolne sudionike (24,0, IQR 24,0 – 25,0 godina), izloženi sudionici (27,0, IQR 23,8 – 29,0 godina) bili su značajno stariji,  $U = 773,5$ ,  $z = -3,8$ ,  $P < 0,001$ . Spolna struktura izloženih (34 muških i 16 ženskih) i kontrolnih (26 muških i 28 ženskih) sudionika značajno se razlikovala,  $P = 0,001$ .

Radnici i studenti bili su uključeni u istraživanje od svibnja 2021. do ožujka 2023. nakon inicijalnog audiološkog ispitivanja i procjene rizika od oštećenja sluha bukom na Audiološko-fonijatrijskom dijagnostičko-terapijskom odjelu Klinike za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu. Svaki sudionik jednom je posjetio Odjel. Prema istraživanju Bramhall i suradnika (76), inicijalno audiološko ispitivanje uključivalo je: otoskopiju, tonsku audiometriju (*Audiometer AC40* sa slušalicama *DD45*) i timpanometriju (*Interacoustics AZ26*). Radnicima i studentima s barem jednostrano urednim audiogramom (pragovi sluha manji od 20 dB 0,25 – 8 kHz, razlika u pragovima  $< 15$  dB između susjednih frekvencija unutar raspona 3 – 6 kHz, najviše jedan koštano-zračni razmak od 15 dB na pojedinoj frekvenciji) i timpanogramom (vršni tlak u srednjem uhu  $\pm 50$  daPa na 226 Hz, podatljivost bubnjića i slušnih košćica 0,3 – 1,3 mL) Megersoninim upitnikom (Prilog 1) procijenjen je rizik od oštećenja sluha bukom radi probira radnika s visokom razinom i studenata s niskom razinom rizika od oštećenja sluha bukom (116). U jednoga radnika i dvoje studenata audiogram nije bio uredan te nisu bili uključeni u istraživanje.

#### 4.1.2. Megersonin upitnik za identifikaciju mladih odraslih osoba s visokim rizikom od oštećenja sluha bukom

Profesionalni prevoditelj, koji je izvorni hrvatski govornik, preveo je upitnik s engleskog na hrvatski jezik. Prijevod su raspravili: dvoje specijalista medicine rada i sporta i troje radnika koji rade u buci, od kojih nitko nije bio upoznat s izvornom verzijom upitnika na engleskom jeziku. Predložili su izmjenu prijevoda upitnika, što je bilo i prihvaćeno. Drugi profesionalni prevoditelj preveo je izmijenjeni hrvatski prijevod upitnika na engleski jezik te ga usporedio s izvornom verzijom. Treći prevoditelj preveo je posljednji engleski prijevod na hrvatski jezik. Posljednji hrvatski prijevod bio je korišten u ovome istraživanju.

Upitnik sadrži tri čestice s pitanjima o izloženosti buci unazad godinu dana od uključivanja u istraživanje. Pitanja su s višestrukim izborom odgovora (*nikada, svakih nekoliko mjeseci, svaki mjesec, svaki tjedan, svaki dan*), a odnose se na izloženost impulsnoj buci neovisno o mjestu rada (prva čestica) i kontinuiranoj buci na mjestu rada (druga čestica) ili izvan mjesta rada (treća čestica).

U prvoj čestici, odgovor *nikada* iznosi nula bodova, *svakih nekoliko mjeseci* tri boda, *svaki mjesec* šest bodova, *svaki tjedan* devet bodova i *svaki dan* dvanaest bodova. U drugoj i trećoj čestici, odgovor *nikada* iznosi nula bodova, *svakih nekoliko mjeseci* jedan bod, *svaki mjesec* dva boda, *svaki tjedan* tri boda i *svaki dan* četiri boda. Zbroj bodova triju čestica razina je rizika od oštećenja sluha bukom. Razina 0 – 4 označava *mali* rizik, a razina 5 – 20 *veliki* rizik. U dvoje studenata rizik od oštećenja sluha bukom bio je velik te nisu bili uključeni u istraživanje. Radnici s velikim rizikom (5,0, IQR 5,0 – 6,0) i studenti s malim rizikom (1,0, IQR 1,0 – 2,0) od oštećenja sluha bukom bili su uključeni u istraživanje.

Svi sudionici ( $N = 104$ ) uspješno su ispunili upitnik unutar jedne minute. Prilikom uručivanja upitnika, voditelj istraživanja zamolio je sudionike da prijave nejasnoće vezane uz sadržaj upitnika. Jedan je sudionik bio jednom izložen buci vatrometa unazad godinu dana od uključivanja u istraživanje te je zamolio pojašnjenje pitanja o izloženosti impulsnoj buci. Voditelj istraživanja razmotrio je udaljenost od vatrometa, intenzitet buke, duljinu i učestalost izlaganja sličnoj impulsnoj buci te mu je bilo predloženo označiti odgovor *svakih nekoliko mjeseci*.

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Ljestvica doživljenog stresa (engl. *Perceived Stress Scale, PSS*)

Svi sudionici ( $N = 104$ ) ispunili su ljestvicu radi određivanja razine doživljenoga stresa (Prilog 2). Ljestvica sadrži deset čestica s pitanjima o mislima i osjećajima vezanima uz stres unazad mjesec dana od uključivanja u istraživanje. Pitanja su s višestrukim izborom odgovora: *nikada* (0), *gotovo nikada* (1), *ponekad* (2), *poprilično često* (3) i *vrlo često* (4). Brojka uz odgovor označava broj bodova u čestici, izuzevši četvrtu, petu, sedmu i osmu česticu, u kojima *nikada* vrijedi četiri boda, *gotovo nikada* tri boda, *ponekad* dva boda, *poprilično često* jedan bod i *vrlo često* nula bodova. Razina doživljenoga stresa pojedinog sudionika odgovara zbroju bodova u svim česticama, pri čemu veći zbroj označava višu razinu stresa.

### 4.2.2. Upitnik za procjenu psihosocijalnih rizika na mjestu rada *Health and Safety Executive* (engl. *HSE*)

Izloženi sudionici ( $N = 50$ ) ispunili su upitnik HSE radi procjene izloženosti psihosocijalnim rizičnim čimbenicima na mjestu rada (Prilog 3). Upitnik sadrži 35 čestica s pitanjima o izloženosti psihosocijalnim čimbenicima, koje su organizirane u sedam domena:

- problematični odnosi: čestice 5, 14, 21, 34
- visoki radni zahtjevi: čestice 3, 6, 9, 12, 16, 18, 20, 22
- neupućenost u promjene u radu: čestice 26, 28, 32
- nejasnoća radne uloge: čestice 1, 4, 11, 13, 17
- nedostatak podrške suradnika: čestice 7, 24, 27, 31
- nedostatak podrške upravitelja: čestice 8, 23, 29, 33, 35
- nedostatak kontrole: čestice 2, 10, 15, 19, 25, 30

Pitanja su s višestrukim izborom odgovora. U prva 23 pitanja, ponuđeni odgovori su: *nikada* (1), *rijetko* (2), *ponekad* (3), *često* (4), *uvijek* (5). U preostalim 12 pitanja, ponuđeni odgovori su: *izrazito se ne slažem* (1), *ne slažem se* (2), *niti se slažem niti ne slažem* (3), *slažem se* (4), *izrazito se slažem* (5). Brojka uz odgovor označava broj bodova u čestici, izuzevši čestice 1, 2, 4, 7, 8, 10, 11, 13, 15, 17, 19, 23 – 33 i 35, u kojima *nikada* ili *izrazito se ne slažem* (1) vrijedi pet bodova, *rijetko* ili *ne slažem se* (2) četiri boda, *ponekad* ili *niti se slažem niti ne slažem* (3) tri boda, *često* ili *slažem se* (4) tri boda i *uvijek* ili *izrazito se slažem* (5) jedan bod. Vjerojatnost izloženosti pojedinom psihosocijalnom rizičnom čimbeniku odgovara zbroju broja bodova u česticama koje su vezane uz pojedini rizični čimbenik podijeljenim s brojem čestica



u istoj domeni. Vjerojatnost je mala ako je 1,0 – 2,9. Sudionici s vjerojatnošću 3,0 – 3,9 vjerojatno su izloženi razmatranim čimbenicima, dok su sudionici s vjerojatnošću 4,0 – 5,0 vrlo vjerojatno izloženi.

#### 4.2.3. Ispitivanje evociranih slušnih potencijala moždanoga debla

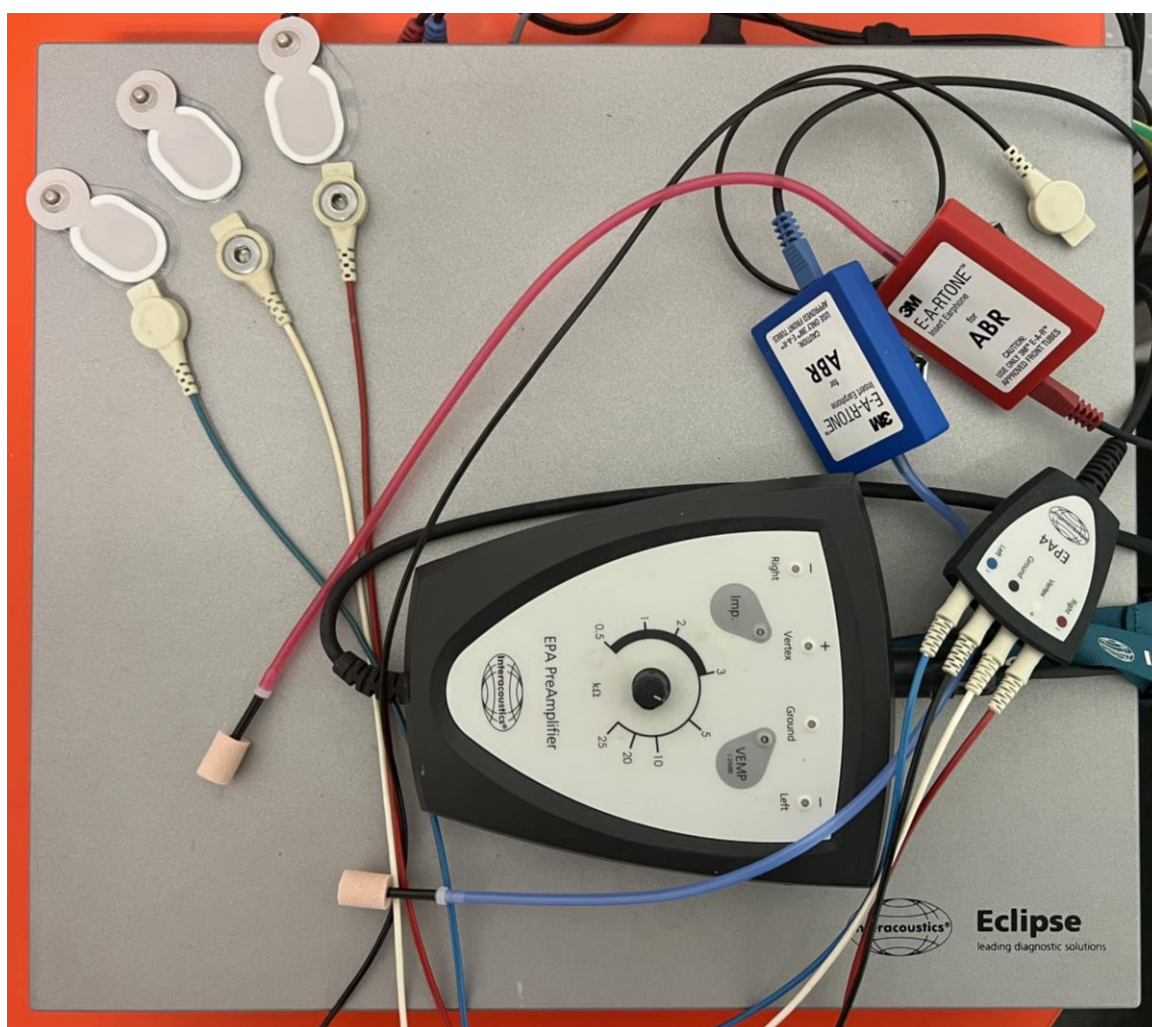
Sudionicima su ABR-ovi ispitani jednostrano, i to na strani uha s urednim audiogramom i timpanogramom, sukladno uključenim audiološkim kriterijima u istraživanju Bramhall i suradnika (76). U sudionika s obostrano urednim audiološkim nalazima proizvoljno je odabrana strana za ispitivanje ABR-ova. Tijekom ispitivanja sudionici su ležali u tihoj i zamračenoj kabini na Slici 4.1.



**Slika 4.1.** Kabina za ispitivanje evociranih slušnih potencijala moždanoga debla (fotografirano uz dopuštenje voditelja Audiološko-fonijatrijskog dijagnostičko-terapijskog odjela Klinike za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu)

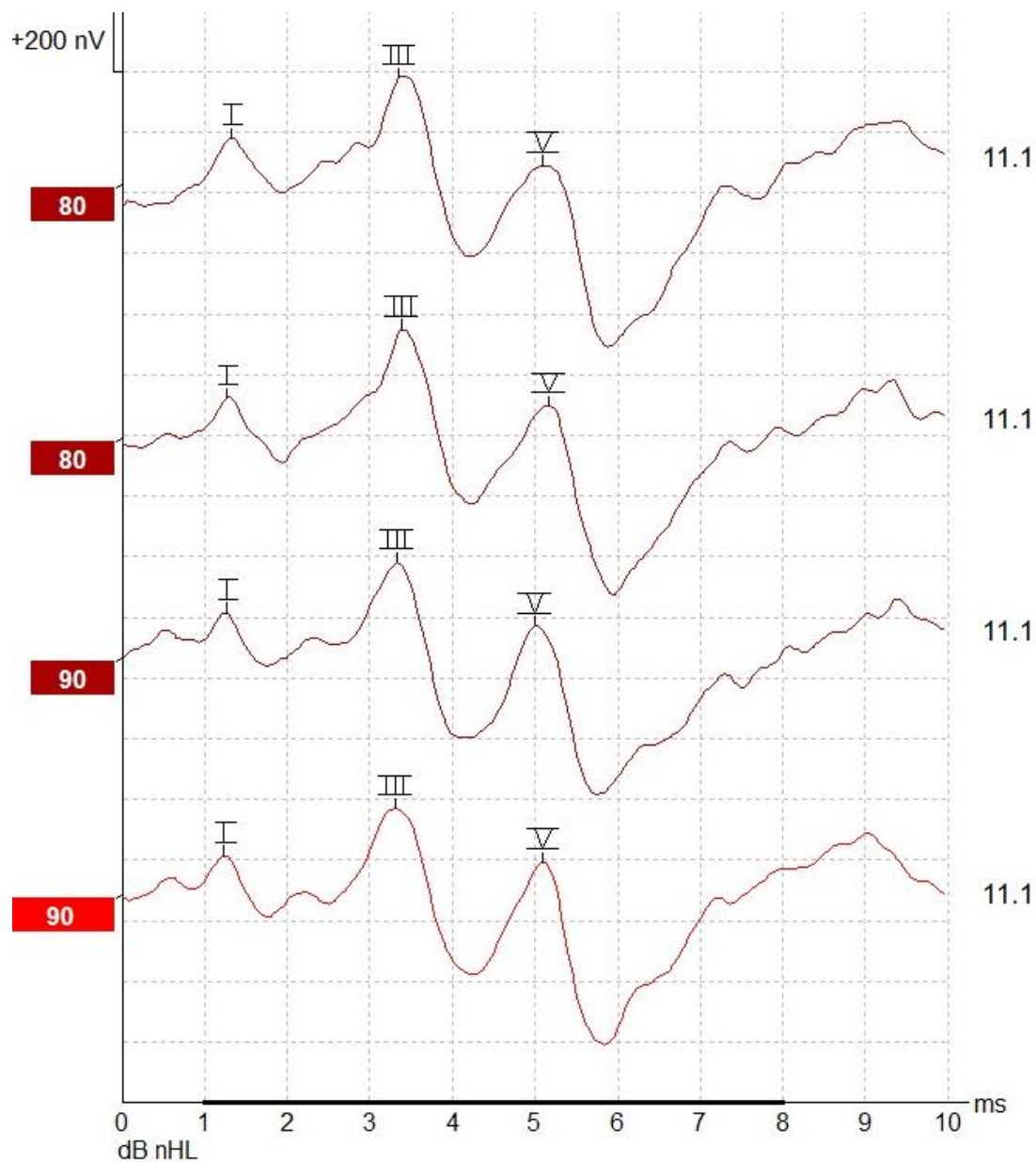
Zvučni podražaj za ispitivanje ABR-ova bio je klik razina intenziteta 80 i 90 dB, trajanja 0,1 ms i stope podraživanja 11,1/s. Odabir stope podraživanja i razina intenziteta zvučnoga podražaja bio je usklađen s istraživanjem Bramhall i suradnika (76).

ABR-ovi pri pojedinoj razini intenziteta klika bili su ispitani dvaput u svakog sudionika. Podražaj je bio odaslan pomoću slušalice u vanjskom zvukovodu, a ABR-ovi su bili zabilježeni pomoću triju samoljepljivih elektroda – jedne čeone i dviju mastoidnih. Prvi i peti val ABR-ova bili su analizirani pomoću programske podrške koja je kompatibilna s korištenom opremom za ispitivanje ABR-ova: *ABR Interacoustics Eclipse*, *EPA Preamplifier* i *3M E-A-RTONE Insert Earphone ABR* (Slika 4.2.).



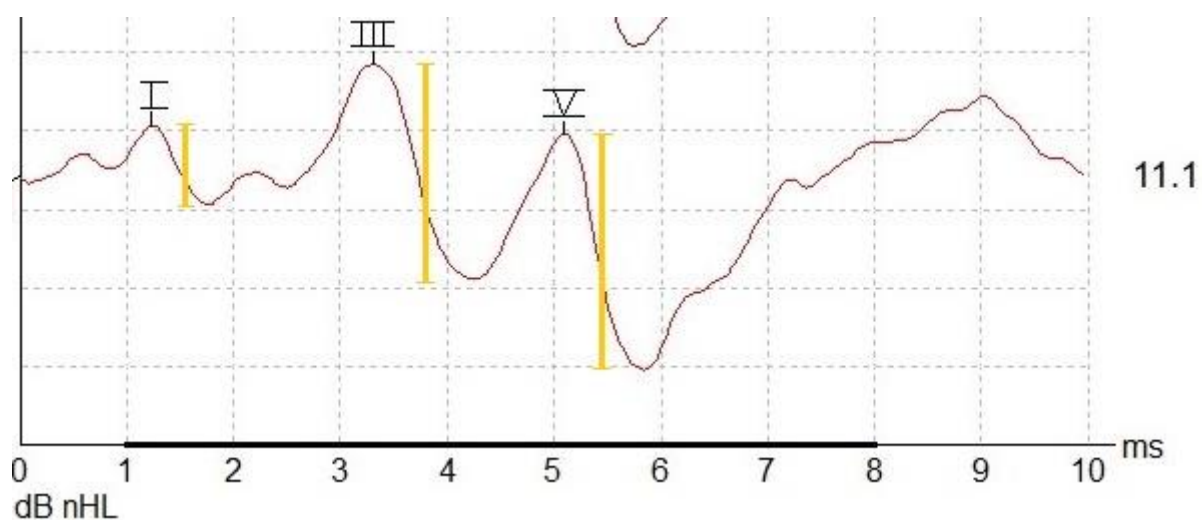
**Slika 4.2.** Oprema za ispitivanje evociranih slušnih potencijala moždanoga debla: *ABR Interacoustics Eclipse*, *EPA Preamplifier* i *3M E-A-RTONE Insert Earphone ABR* (fotografirano uz dopuštenje voditelja Audiološko-fonijatrijskog dijagnostičko-terapijskog odjela Klinike za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu)

Na Slici 4.3. prikazani su valovi ABR-ova na primjeru kontrolnog sudionika ovoga istraživanja.



**Slika 4.3.** Amplituda prvog (I), trećeg (III) i petog (V) vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla [ $\mu\text{V}$ ] u kontrolnog sudionika nakon podražaja klikom razina intenziteta 80 i 90 dB, trajanja 0,1 ms i stope podraživanja 11,1/s

Razlike između bregova prvog ili petog vala i nadolazećih dolova odgovarale su amplitudama valova [ $\mu\text{V}$ ]. Aritmetička sredina amplituda prvog ili petog vala pri pojedinoj razini intenziteta klika bila je korištena u daljnjoj analizi podataka. Omjer amplituda prvoga i petoga vala pri pojedinoj razini intenziteta klika bio je izračunat dijeljenjem amplitude prvog vala s amplitudom petog vala. Na Slici 4.4. prikazan je princip određivanja veličine amplituda ABR-ova.



**Slika 4.4.** Duljina uspravne žute linije odgovara veličini amplitude valova (I, III, V) evociranih slušnih potencijala moždanoga debla [ $\mu\text{V}$ ]

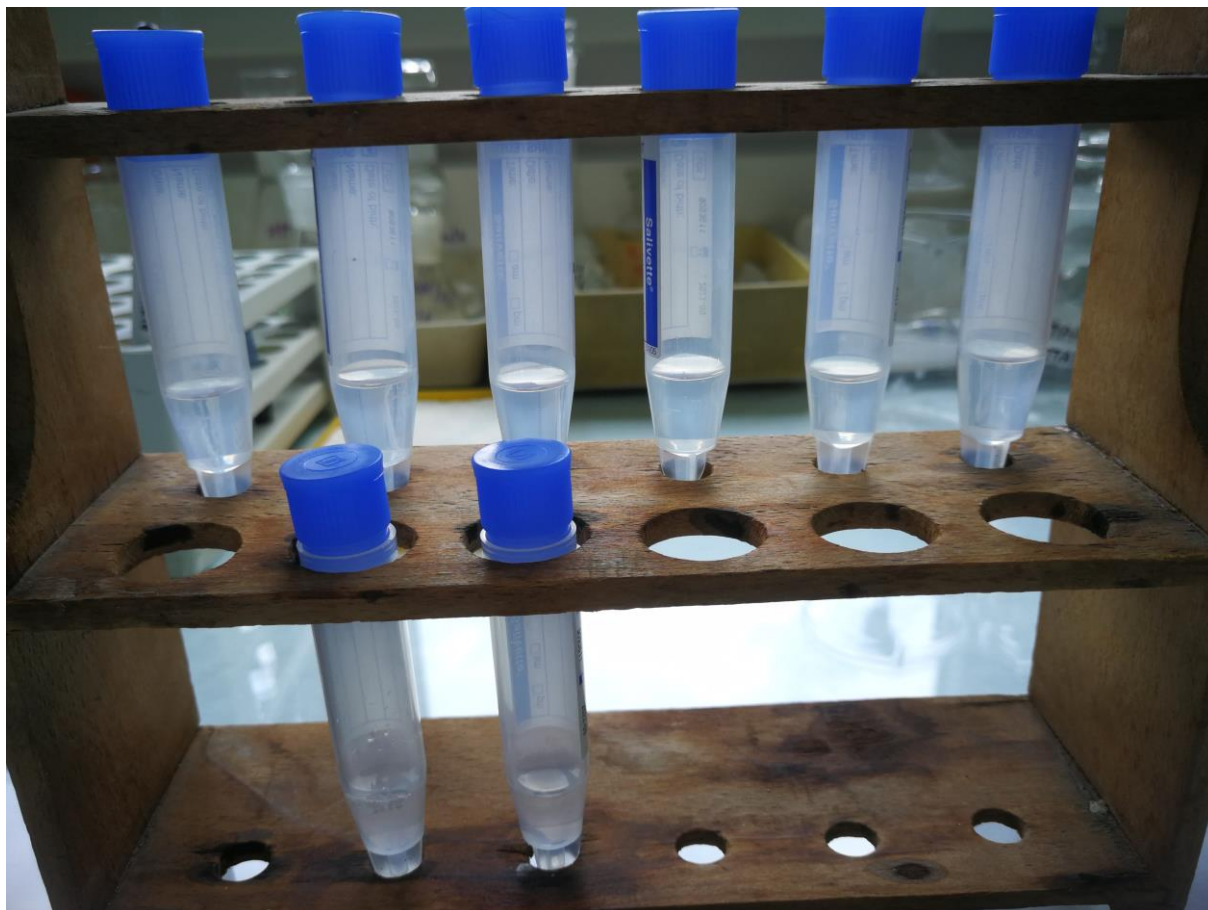
#### 4.2.4. Određivanje koncentracije kortizola i kortizona u slini

##### 4.2.4.1. Prikupljanje uzoraka sline

Sudionici su uzorkovali vlastitu slinu tijekom tri uzastopna dana (106) neposredno prije ili neposredno nakon audiološkog ispitivanja. Uzorkovali su slinu pomoću sintetičkih nosača *Salivette® Cortisol*, jednom dnevno, odmah nakon jutarnjeg buđenja. Prethodno nisu prali zube niti jeli. Nosač su namočili slinom držeći ga u ustima tijekom tri minute. Potom su ga pohranili u plastični umetak u kiveti, koju su odložili u hladnjak na 4 – 8 °C. Nakon posljednjeg uzorkovanja, tri su kivete dostavili voditelju istraživanja radi centrifugiranja (425 g tijekom 10 minuta) i zamrzavanja uzoraka na –18 °C u Zavodu za higijenu okoliša Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu.

#### 4.2.4.2. *Priprema uzoraka sline za analizu*

Nakon prikupljanja dovoljnog broja uzoraka sline za analizu, uzorci u kivetama bili su odmrznuti na sobnoj temperaturi i ponovno centrifugirani (425 g tijekom 10 minuta), kao što je prikazano na Slici 4.5.



**Slika 4.5.** Centrifugirani uzorci sline u kivetama nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi (fotografirano uz dopuštenje djelatnika Zavoda za higijenu okoliša Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu)

Iz svake od triju kiveta po sudioniku bio je izdvojen po 1,0 mL supernatanta u istu čistu epruvetu. Iz sjedinjenih alikvota supernatanta u epruveti bila su izdvojena po dva poduzorka volumena 1,4 mL, u kojima je određena koncentracija kortizola i kortizona pojedinog sudionika. Aritmetička sredina koncentracija obaju hormona u dvama poduzorcima bila je korištena u daljnjoj analizi podataka.

#### 4.2.4.3. *Laboratorijski instrumenti, pribor i kemikalije*

- tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti s pumpom *ProStar 230 SDM*, UV-detektorom s nizom fotodioda i automatskim uzorkivačem *AutoSampler 410*, *Varian*, Walnut Creek, CA, SAD, opremljen s kromatografskom kolonom *Discovery HS F5* (15 cm × 2,1 mm, veličina čestica 5 μm), *Supelco*, Bellefonte, PA, SAD i pretkolonom *Gemini C<sub>18</sub>* (4 × 3 mm, veličina čestica 5 μm), *Phenomenex*, Torrance, CA, SAD
- sintetički nosač sline *Salivette<sup>®</sup> Cortisol*, *Sarstedt*, Nümbrecht, Njemačka
- analitička vaga *AB104*, *Mettler Toledo*, Schwerzenbach, Švicarska
- uređaj za uparavanje u struji dušika *N-evap*, *The Meyer*, SAD
- centrifuga *Centric 322A*, *Tehtnica*, Železniki, Slovenija
- miješalica *Bio Vortex VI*, *BIOSAN*, Riga, Latvija
- pipete *epT.I.P.S.* i polipropilenske konusne kivete s čepom (2 mL), *Eppendorf*, Hamburg, Njemačka
- polipropilenske i polietilenske šprice *BD DISCARDIT 300928 BX10* (2 mL), *King Scientific*, West Yorkshire, Ujedinjeno Kraljevstvo
- politetrafluoretilenski filteri *Acrodisc CR* (veličina pora 0,2 μm), *Waters*, Milford, MA, SAD
- staklene vijale s fiksnim umetkom 300 μL i politetrafluoretilenskim i silikonskim čepom, *Agilent*, Santa Clara, CA, SAD

#### Sorbensi za ekstrakciju na čvrstoj fazi

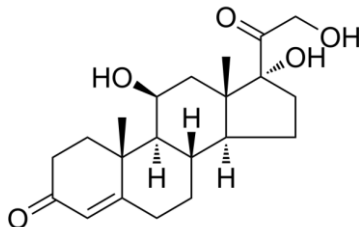
- *Discovery DSC-18* (100 mg, 1 mL), *Supelco*, Bellefonte, PA, SAD
- *Supelclean ENVI-Carb* (250 mg, 6 mL), *Supelco*, Bellefonte, PA, SAD

#### Otapala

- metanol i acetonitril, *LiChrosolv*, J. T. Baker, Deventer, Nizozemska
- aceton, *Chromasolv*, *Merck*, Darmstadt, Njemačka
- dietilni eter i heksan, *Suprasolv*, *Merck*, Darmstadt, Njemačka
- ultračista voda pripravljena primjenom sustava za pročišćavanje vode *Milli-Q*, *Millipore*, Bedford, MA, SAD

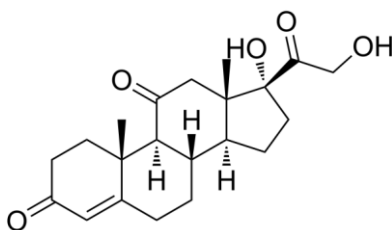
## Analitički standardi

- Kortizol,  $C_{21}H_{30}O_5$ , (11 $\beta$ ,17 $\alpha$ )-trihidroksi-4-pregnen-3,20-dion, registarski broj *Chemical Abstracts Service* (engl. CAS), 50-23-7, molarna masa 362,47 g/mol (Slika 4.6.)



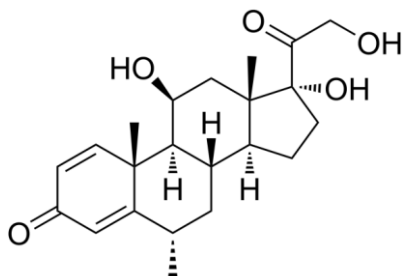
**Slika 4.6.** Strukturna formula kortizola

- Kortizon,  $C_{21}H_{28}O_5$ , (17 $\alpha$ ,21 $\beta$ )-dihidroksi-4-pregnen-3,11,20-trion, registarski broj CAS 53-06-5, molarna masa 360,44 g/mol (Slika 4.7.)



**Slika 4.7.** Strukturna formula kortizona

- Metilprednizolon – unutarnji standard,  $C_{22}H_{30}O_5$ , (11 $\beta$ ),17,21-trihidroksi-(6 $\alpha$ )-metil-1,4-pregna-3,20-dion, registarski broj CAS 83-43-2, molarna masa 374,47 g/mol (Slika 4.8.)



**Slika 4.8.** Strukturna formula metilprednizolona

Kortizol, kortizon i metilprednizolon bili su nabavljeni u čvrstom stanju analitičke čistoće 98,0 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD. Registarski brojevi CAS preuzeti su s internetskih stranica Američkog kemijskog društva (<https://commonchemistry.cas.org/>).

#### 4.2.4.4. Validacija istovremene kromatografske analize kortizola i kortizona u slini

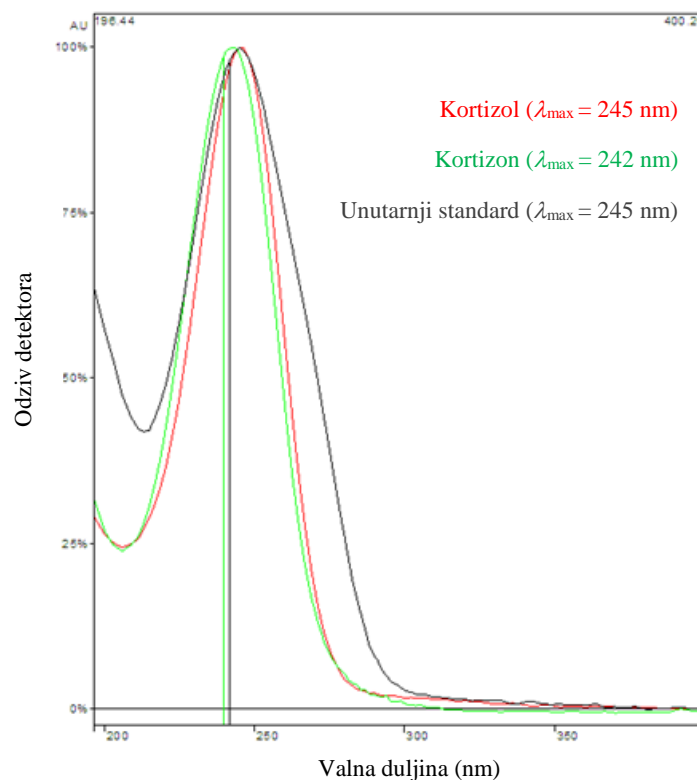
Određivanju analita prethodila je validacija metode istovremene kromatografske analize kortizola i kortizona u slini pomoću uređaja na Slici 4.9. Radi se o tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti u kojoj je nepokretna faza bila punilo kromatografske kolone na bazi modificiranog silika-gela s vezanim alkilnim ( $C_{18}$ ) lancima, a pokretna faza smjesa ultračiste vode i acetonitrila. Kromatografska analiza bila je prilagođena u odnosu na objavljenu metodu u istraživanju De Pala i suradnika (100). Injektirani volumen uzorka sline, temperatura analize, valne duljine detekcije steroida te eluiranje analita iz kromatografske kolone bili su modificirani radi optimizacije kromatografskih signala, trajanja analize te povećanja selektivnosti, osjetljivosti i specifičnosti metode.





**Slika 4.9.** Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti s pumpom *ProStar 230 SDM*, UV-detektorom s nizom fotodioda i automatski uzorkivačem *AutoSampler 410*, Varian, Walnut Creek, CA, SAD opremljen s kromatografskom kolonom *Discovery HS F5* (15 cm × 2,1 mm, veličina čestica 5 μm), Supelco, Bellefonte, PA, SAD i pretkolonom *Gemini C<sub>18</sub>* (4 × 3 mm, veličina čestica 5 μm), Phenomenex, Torrance, CA, SAD

Analitički standardi bili su zasebno otopljeni u metanolu radi pripreme koncentriranih otopina kortizola, kortizona i metilprednizolona (unutarnji standard). Razrjeđivanjem koncentriranih otopina smjesom metanola i vode (1 : 1,  $\varphi$  :  $\varphi$ ) bile su pripremljene standardne otopine kortizola (A), kortizona (B) i metilprednizolona (C) množinske koncentracije 500 nmol/L. U otopinama A, B i C bile su određene optimalne valne duljine detekcije steroida ( $\lambda_{\max}$ ) snimanjem UV-spektara kortizola, kortizona i metilprednizolona između 200 i 400 nm (Slika 4.10.).



**Slika 4.10.** UV-spektri kortizola, kortizona i metilprednizolona u smjesi metanola i vode (1 : 1,  $\varphi$  :  $\varphi$ ).

Odabirom optimalne valne duljine detekcije, pri kojoj je intenzitet apsorpcije ultraljubičastih zraka za sva tri spoja bio najveći (245 nm), bila je postignuta zadovoljavajuća selektivnost i osjetljivost analize. Temperatura analize bila je 22 °C.

Specifičnost analize bila je postignuta odabirom kemijske prirode punila kolone i gradijentnim eluiranjem spojeva iz kolone uz brzinu protoka 0,25 mL/min i volumen injektiranog uzorka 50  $\mu\text{L}$ . Sastav pokretne faze tijekom kromatografske analize prikazan je u Tablici 4.1.

**Tablica 4.1.** Sastav pokretne faze (acetonitril i ultračista voda) tijekom kromatografske analize

Vrijeme (minuta)	Acetonitril (%)	Ultračista voda (%)
0	20,0	80,0
6	40,0	60,0
8	40,0	60,0
10	20,0	80,0
15	20,0	80,0

Određivanju analita u slini sudionika prethodila je priprema modelnih uzoraka sline radi određivanja djelotvornosti, preciznosti i granica kvantifikacije prilagođene metode. Dvoje dobrovoljaca uzorkovali su vlastitu slinu pomoću sintetičkih nosača *Salivette*<sup>®</sup> *Cortisol*, a sadržaj svih kiveta bio je sjedinjen u istoj čistoj epruveti. Oba dobrovoljca nisu koristili oralne ili intranazalne kortikosteroidne lijekove tijekom ili neposredno prije uzorkovanja sline, te su bili upoznati s ciljevima istraživanja. Endogeni steroidi u slini bili su uklonjeni iz matrice ekstrakcijom na čvrstoj fazi, odnosno propuštanjem sline kroz stupac aktivnog ugljena *Supelclean ENVI-Carb* uz primjenu tlaka pomoću sintetskog zraka. Nakon centrifugiranja pročišćene sline (425 g tijekom 10 minuta), bilo je izdvojeno 15 alikvota supernatanta radi pripreme triju koncentracijskih razina egzogenih steroida u modelnim uzorcima sline i jedan alikvot radi pripreme kontrolnog modelnog uzorka.

Pripremi modelnih uzorka uzoraka sline prethodila je priprema standardne otopine D razrjeđivanjem smjese koncentriranih otopina kortizola i kortizona vodom. Istom smjesom otapala bila je razrijeđena i koncentrirana otopina metilprednizolona radi pripreme standardne otopine X. Daljnjim razrjeđivanjem otopina D i X vodom pripremljene su otopine smjese kortizola i kortizona (E) i metilprednizolona (Y). Množinske koncentracije steroidnih spojeva u otopinama smjese kortizola i kortizona i otopinama metilprednizolona prikazane su u Tablici 4.2.

**Tablica 4.2.** Množinske koncentracije steroidnih spojeva u otopinama smjese kortizola i kortizona (D, E) u  $\mu\text{mol/L}$  i otopinama metilprednizolona (X, Y) u  $\text{nmol/L}$

	<b>D</b>	<b>X</b>	<b>E</b>	<b>Y</b>
	$\mu\text{mol/L}$		$\text{nmol/L}$	
<b>Kortizol</b>	30,0	–	898,8	–
<b>Kortizon</b>	27,5	–	824,7	–
<b>Unutarnji standard</b>	–	29,8	–	804,1

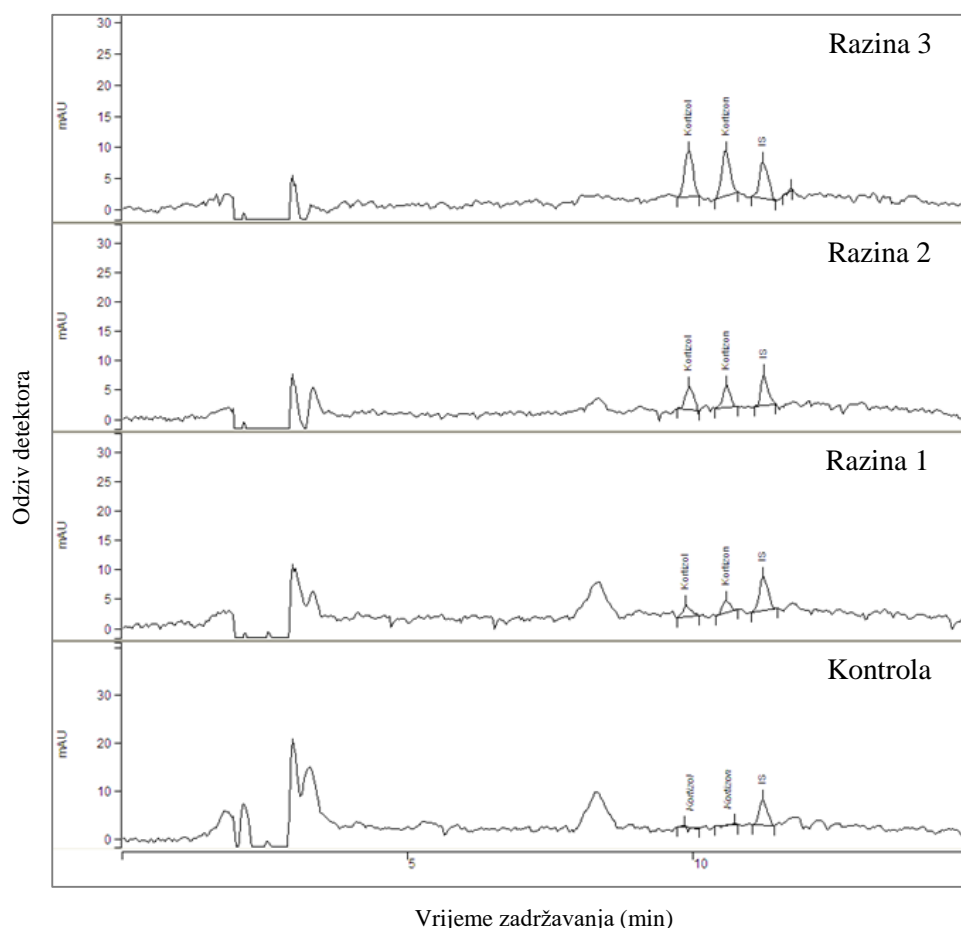
Modelni uzorci sline bili su pripremljeni pomoću otopina E i Y, a kontrolni uzorak pomoću otopine Y. Unutar svake od triju koncentracijskih razina bilo je pripremljeno po pet modelnih uzoraka, a sadržavali su kortizon, kortizol i unutarnji standard. Kontrolni uzorak sadržavao je samo unutarnji standard. Razine množinskih koncentracija steroidnih spojeva u modelnim uzorcima sline prikazane su u Tablici 4.3.

**Tablica 4.3.** Razine množinskih koncentracija steroidnih spojeva u modelnim uzorcima sline

	<b>Razina 1</b>	<b>Razina 2</b>	<b>Razina 3</b>
	$\text{nmol/L}$		
<b>Kortizol</b>	12,0	24,0	47,9
<b>Kortizon</b>	11,0	22,0	44,0
<b>Unutarnji standard</b>	53,6	53,6	53,6

Steroidi modelnih uzoraka sline bili su ekstrahirani na čvrstoj fazi pomoću stupca sa sorbensom *Discovery DSC-18*, koji je prethodno bio kondicioniran metanolom (1,5 mL) i vodom (1,5 mL). Zadržane nečistoće bile su isprane vodom (0,5 mL) te smjesom acetona i vode (1 : 4,  $\varphi$  :  $\varphi$ ), nakon čega su analiti bili eluirani dietilnim eterom (2,0 mL). Dobiveni ekstrakt bio je propušten kroz politetrafluoretilenski filter u konusnu polipropilensku kivetu te uparen do suhog ostatka pomoću blage struje dušika. Suhi ostatak bio je rekonstituiran pomoću smjese otapala metanola i vode (1 : 1,  $\varphi$  :  $\varphi$ ), čime je uzorak postao koncentriran 10 puta. Nakon miješanja na miješalici tijekom 30 sekundi uzorak je bio premješten kapalicom u vijalu za

kromatografsku analizu. Na Slici 4.11. prikazani su kromatogrami koncentriranih ekstrakata kontrolnog uzorka i modelnih uzoraka sline na koncentracijskim razinama 1, 2 i 3. Vrijeme zadržavanja kortizola iznosilo je 9,8 minuta, kortizona 10,5 minuta i unutarnjeg standarda 11,2 minute.



**Slika 4.11.** Kromatogrami kontrolnog uzorka koncentriranih ekstrakata i modelnih uzoraka sline na koncentracijskim razinama 1, 2 i 3

Djelotvornost prilagođene metode odgovarala je omjeru izmjerene i teoretske koncentracije pojedinog steroida u modelnom uzorku sline, dok je preciznost metode bila izražena kao relativna standardna devijacija (RSD) izmjerene koncentracije. Prosječna djelotvornost analize kortizola i kortizona unutar raspona 11,00 – 47,94 nmol/L bila je 84 % (RSD 9 %,  $N = 5$ ) i 97 % (RSD 2 %,  $N = 5$ ). Granica kvantifikacije bila je procijenjena računanjem omjera signala pojedinog steroida i šuma bazne linije (10 : 1) u kromatogramu ekstrakata sline te je iznosila 5,5 nmol/L za oba spoja.

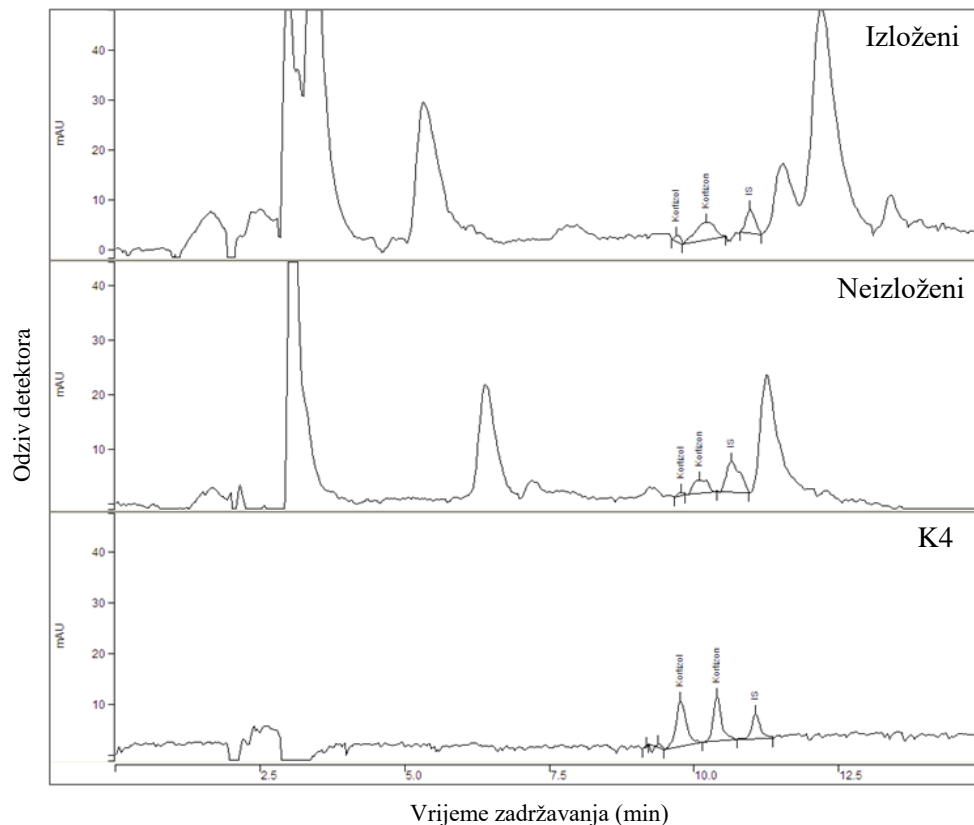
#### 4.2.4.5. Kvalitativna i kvantitativna analiza kortizola i kortizona u slini

Određivanju analita u slini prethodila je kalibracija prilagođene metode pomoću kalibracijskih otopina. Standardna otopina F bila je pripremljena razrjeđivanjem smjese koncentriranih otopina kortizola i kortizona smjesom metanola i vode (1 : 1,  $\varphi$  :  $\varphi$ ). Istom smjesom otapala bila je razrijeđena i koncentrirana otopina unutarnjeg standarda radi pripreme otopine M. Miješanjem konstantnog volumena otopine M s različitim volumenima otopine F pripremljene su četiri kalibracijske otopine, K1 – K4. Množinske koncentracije steroidnih spojeva u kalibracijskim otopinama prikazane su u Tablici 4.4.

**Tablica 4.4.** Množinske koncentracije steroidnih spojeva u kalibracijskim otopinama, K1 – K4

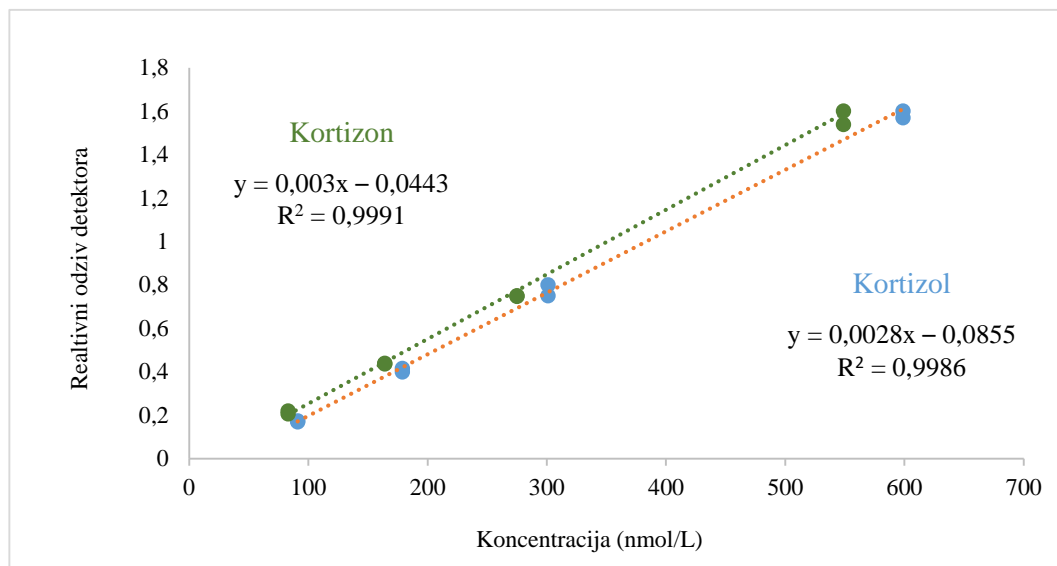
	K1	K2	K3	K4
	nmol/L			
<b>Kortizol</b>	91,0	179,0	301,0	599,0
<b>Kortizon</b>	83,0	164,0	275,0	549,0
<b>Unutarnji standard</b>	536,0	536,0	536,0	536,0

Kvalitativna analiza kortizola i kortizona temeljila se na usporedbi vremena zadržavanja spojeva u kromatografskoj koloni i UV-spektara spojeva između kalibracijske otopine K4 i poduzoraka sline izloženih i kontrolnih sudionika (Slika 4.12.). Kvalitativnoj analizi prethodilo je dodavanje otopine Y (100  $\mu$ L) u svaki poduzorak. Ekstrakcija na čvrstoj fazi i koncentriranje ekstrakata poduzoraka sudionika bili su provedeni kao i s modelnim uzorcima sline. Vrijeme zadržavanja kortizola iznosilo je 9,8 minuta, kortizona 10,5 minuta i unutarnjeg standarda 11,2 minute.



**Slika 4.12.** Kromatogrami koncentriranih ekstrakata poduzoraka sline izloženih i kontrolnih sudionika te kalibracijske otopine K4

Kvantitativna analiza kortizola i kortizona temeljila se na izračunu relativnog odziva detektora ultraljubičastog zračenja i određivanju područja linearnog odziva detektora na kalibracijskoj liniji (Slika 4.13.). Relativni odziv odgovarao je omjeru površine signala pojedinog analita u kalibracijskoj otopini ili uzorku i površine signala unutarnjeg standarda. Kalibracijska linija bila je konstituirana prema podacima dobivenima analizom kalibracijskih otopina K1 – K4. Linearnost je bila procijenjena koeficijentima određenosti ( $R^2$ ) koji su bili veći od 0,999 za oba steroida, i to u rasponu koncentracija 83,0 – 599,0 nmol/L. Nagib kalibracijskih linija ukazao je na sličnu osjetljivost analize oba steroida. Regresijskom analizom kalibracijske linije određeno je područje linearnog odziva detektora pomoću kojeg su kvantificirane koncentracije kortizola i kortizona u sudionika istraživanja. Koncentracija kortizona u slini određena je u svih sudionika ( $N = 104$ ), dok je koncentracija kortizola određena u 35 od 50 izloženih i 38 od 54 kontrolnih sudionika.



**Slika 4.13.** Kalibracijski dijagram za kvantifikaciju kortizola i kortizona u slini

#### 4.2.5. Statističke metode

Prikupljeni podaci analizirani su metodama deskriptivne i inferencijalne statistike, te su prikazani u tekstu i tablicama.

Kategorijska varijabla (spol) prikazana je apsolutnim vrijednostima. Razlika u zastupljenosti žena i muškaraca između skupina izloženih i kontrolnih sudionika utvrđena je  $\chi^2$ -testom. Kontinuirane varijable (koncentracija kortizona i kortizola u slini, amplitude valova i omjeri amplituda valova ABR-ova, dob) i ordinalne varijable (razina doživljenog stresa, vjerojatnost izloženosti psihosocijalnim rizičnim čimbenicima na mjestu rada, razina rizika od oštećenja sluha bukom) prikazane su medijanom i interkvartilnim rasponom (engl. *Interquartile Range*, IQR). Distribucija vrijednosti kontinuiranih varijabli utvrđena je Shapiro-Wilkovim testom. Više podataka o simetriji distribucije kontinuiranih varijabli prikazano je u Tablici 4.5.



**Tablica 4.5.** Simetrija distribucije kontinuiranih varijabli u izloženih ( $N = 50$ ) i kontrolnih sudionika ( $N = 54$ )

<b>Varijabla</b>	<b>Izloženi <math>N = 50</math></b>	<b>Kontrolni <math>N = 54</math></b>
<i>AI<sub>80</sub></i>	0,200	0,200
<i>A5<sub>80</sub></i>	0,163	0,200
<i>AI/5<sub>80</sub></i>	0,200	0,200
<i>AI<sub>90</sub></i>	0,027*	0,200
<i>A5<sub>90</sub></i>	0,200	0,030*
<i>AI/5<sub>90</sub></i>	0,200	< 0,001*
<b>Koncentracija kortizona</b>	0,002*	0,200
<b>Koncentracija kortizola</b>	0,024*	0,200
<b>Dob</b>	0,005*	< 0,001*

*AI<sub>80</sub>*, *AI<sub>90</sub>*, *A5<sub>80</sub>*, *A5<sub>90</sub>*, *AI/5<sub>80</sub>*, *AI/5<sub>90</sub>* – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razina intenziteta 80 ili 90 dB

\* asimetrična distribucija uz  $P < 0,05$  (Shapiro-Wilkov test)

Razlike u kontinuiranim varijablama i razini doživljenog stresa između izloženih i kontrolnih sudionika, te muških i ženskih izloženih sudionika utvrđene su Mann-Whitneyjevim  $U$  testom. Smjer i veličina korelacije između pojedinih kontinuiranih varijabli u izloženih sudionika utvrđena je Spearmanovim koeficijentom  $\rho$ . Varijable s razinom značajnosti  $\leq 0,200$  u prethodnim statističkim analizama (117) uvrštene su u regresijski model za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom. U izradi statističkog modela primijenjena je binarna logistička regresija.

$P$  vrijednosti u navedenim analizama, koje su manje od 0,05, smatrane su značajnima. Prikupljeni podaci obrađeni su pomoću programa *IBM SPSS Statistics* za *Windows*, verzija 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

#### **4.2.6. Etičnost provedbe istraživanja**

Radnici i studenti, koji su bili uključeni u istraživanje, bili su dobrovoljci koji su potpisali informirani pristanak na sudjelovanje u istraživanju. Svakom sudioniku bila je dodijeljena lozinka, kojom su bili označeni: uzorci sline, upitnici i audiološki nalazi. Lozinka i pripadajuće ime i prezime bili su poznati voditelju istraživanja i mentorima. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice.

## 5. REZULTATI

### 5.1. Kortizon i kortizol u slini

Jutarnje koncentracije kortizona ( $U = 792,0$ ,  $z = -3,6$ ,  $P < 0,001$ ) i kortizola ( $U = 270,5$ ,  $z = -4,4$ ,  $P < 0,001$ ) u slini bile su značajno veće u izloženih nego u kontrolnih sudionika. Više podataka o koncentracijama hormona u slini prikazano je u Tablici 5.1.

**Tablica 5.1.** Jutarnja koncentracija kortizona i kortizola u izloženih ( $N = 50$ ) i kontrolnih ( $N = 54$ ) sudionika

	Kortizon		Kortizol	
	Izloženi	Kontrolni	Izloženi	Kontrolni
	nmol/L			
<b>Medijan</b>	32,4*	21,2	8,7*	6,8
<b>Interkvartilni raspon</b>	18,5 – 49,8	18,0 – 23,6	6,9 – 11,2	6,1 – 7,1

\* značajno veća nego u kontrolnih sudionika ( $P < 0,001$ ; Mann-Whitneyjev  $U$  test)

Uočena je značajna pozitivna korelacija između koncentracije kortizona i kortizola u izloženih sudionika ( $\rho = 0,692$ ,  $P < 0,001$ ), te gotovo značajna i pozitivna korelacija između kortizona i kortizola ( $\rho = 0,317$ ,  $P = 0,052$ ) u kontrolnih sudionika.

U izloženih sudionika, nije uočena značajna razlika između muškaraca i žena u koncentraciji kortizona ( $U = 255,5$ ,  $z = -0,3$ ,  $P = 0,731$ ) i kortizola ( $U = 121,0$ ,  $z = -0,3$ ,  $P = 0,381$ ) u slini. Više podataka o koncentracijama kortizona i kortizola u muških ( $N = 34$ ) i ženskih ( $N = 16$ ) izloženih sudionika prikazano je u Tablici 5.2.

**Tablica 5.2.** Jutarnja koncentracija kortizona i kortizola u muških ( $N = 34$ ) i ženskih ( $N = 16$ ) izloženih sudionika

	Kortizon		Kortizol	
	Muškarci	Žene	Muškarci	Žene
	nmol/L			
<b>Medijan</b>	29,6	34,6	9,0	7,8
<b>Interkvartilni raspon</b>	18,3 – 60,4	18,5 – 46,6	7,3 – 11,2	6,6 – 12,2

## 5.2. Povezanost psihičkih napora s kortizonom i kortizolom u slini

Nije uočena značajna razlika u razini doživljenog stresa između izloženih (17,0, IQR 12,0 – 22,0) i kontrolnih (15,0, IQR 11,0 – 20,25) sudionika,  $U = 1205,5$ ,  $z = -0,9$ ,  $P = 0,346$ . U izloženih sudionika uočena je značajna negativna korelacija između razine doživljenog stresa i koncentracije kortizona,  $\rho = -0,394$ ,  $P = 0,019$ . Korelacija između razine doživljenog stresa i koncentracije kortizola u izloženih sudionika također je bila negativna, ali ne i značajna,  $\rho = -0,220$ ,  $P = 0,125$ .

U izloženih sudionika, nije uočena korelacija između psihosocijalnih rizičnih čimbenika na mjestu rada te koncentracije kortizona i kortizola. Više podataka o vjerojatnosti izloženosti psihosocijalnim rizičnim čimbenicima i pripadajućim korelacijama u izloženih sudionika prikazano je u Tablici 5.3.

**Tablica 5.3.** Vjerojatnost izloženosti psihosocijalnim rizičnim čimbenicima na mjestima rada te korelacije između psihosocijalnih rizičnih čimbenika i koncentracije kortizona i kortizola u izloženih sudionika ( $N = 50$ )

Psihosocijalni čimbenik	Vjerojatnost izloženosti (medijan; IQR)	Kortizon		Kortizol	
		Spearmanov $\rho$	$P$	Spearmanov $\rho$	$P$
neupućenost u promjene u radu	srednja (3,7; 3,3 – 4,0)	0,109	0,451	-0,013	0,939
nejasnoća radne uloge	visoka (4,8; 4,4 – 5,0)	-0,188	0,190	-0,098	0,574
problematični odnosi	niska (1,8; 1,5 – 2,5)	0,053	0,714	0,074	0,714
nedostatak podrške suradnika	visoka (4,0; 3,5 – 4,8)	0,124	0,391	0,001	0,997
nedostatak podrške upravitelja	visoka (4,2; 3,4 – 4,5)	0,078	0,590	-0,088	0,617
nedostatak kontrole	srednja (3,8; 3,5 – 4,2)	-0,077	0,597	-0,086	0,623
visoki radni zahtjevi	niska (2,4; 2,1 – 2,9)	-0,039	0,789	0,118	0,501

IQR – interkvartilni raspon

### 5.3. Značajke evociranih slušnih potencijala moždanoga debla

Nije uočena značajna razlika između izloženih i kontrolnih sudionika u amplitudama prvog ( $AI_{80}$ ,  $AI_{90}$ ) i petog ( $A5_{80}$ ,  $A5_{90}$ ) vala, te u omjerima amplituda ( $AI/5_{80}$ ,  $AI/5_{90}$ ) valova ABR-ova evociranih klikom razina intenziteta 80 ili 90 dB. Više podataka o značajkama ABR-ova u izloženih i kontrolnih sudionika prikazano je u Tablici 5.4.

**Tablica 5.4.** Amplitude prvog ( $AI$ ) i petoga ( $A5$ ) vala i omjeri amplituda ( $AI/5$ ) valova slušnih potencijala moždanoga debla evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB u izloženih ( $N = 50$ ) i kontrolnih ( $N = 54$ ) sudionika

Značajka	Izloženi $N = 50$	Kontrolni $N = 54$	$P$
	$\mu V$		
$AI_{80}$	0,25 (IQR 0,18 – 0,35)	0,32 (IQR 0,21 – 0,38)	0,063
$A5_{80}$	0,41 (IQR 0,33 – 0,51)	0,40 (IQR 0,32 – 0,47)	0,668
$AI/5_{80}$	0,72 (IQR 0,46 – 0,92)	0,77 (IQR 0,50 – 1,10)	0,260
$AI_{90}$	0,24 (IQR 0,18 – 0,40)	0,31 (IQR 0,23 – 0,38)	0,219
$A5_{90}$	0,34 (IQR 0,26 – 0,44)	0,38 (IQR 0,29 – 0,43)	0,410
$AI/5_{90}$	0,82 (IQR 0,55 – 1,33)	0,87 (IQR 0,68 – 1,05)	0,861

$AI_{80}$ ,  $AI_{90}$ ,  $A5_{80}$ ,  $A5_{90}$ ,  $AI/5_{80}$ ,  $AI/5_{90}$  – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razina intenziteta 80 ili 90 dB  
IQR – interkvartilni raspon

Uočena je značajna razlika između muških izloženih i kontrolnih sudionika u amplitudi prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB,  $U = 303,0$ ,  $z = -2,1$ ,  $P = 0,038$ . Više podataka o razlikama između ispitivanih značajki ABR-ova između muških izloženih i kontrolnih sudionika, te ženskih izloženih i kontrolnih sudionika prikazano je u Tablici 5.5. i Tablici 5.6.

**Tablica 5.5.** Amplitude prvog (*AI*) i petoga (*A5*) vala i omjeri amplituda (*AI/5*) valova slušnih potencijala moždanoga debla evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB u izloženih (*N* = 16) i kontrolnih (*N* = 28) sudionika ženskoga spola

Značajka	Izloženi	Kontrolni	<i>P</i>
	<i>N</i> = 16	<i>N</i> = 28	
	$\mu\text{V}$		
<i>AI</i> <sub>80</sub>	0,36 (IQR 0,28 – 0,42)	0,35 (IQR 0,25 – 0,39)	0,591
<i>A5</i> <sub>80</sub>	0,45 (IQR 0,37 – 0,54)	0,40 (IQR 0,32 – 0,47)	0,566
<i>AI/5</i> <sub>80</sub>	0,87 (IQR 0,61 – 1,13)	0,81 (IQR 0,52 – 1,15)	0,558
<i>AI</i> <sub>90</sub>	0,38 (IQR 0,26 – 0,46)	0,33 (IQR 0,22 – 0,37)	0,164
<i>A5</i> <sub>90</sub>	0,34 (IQR 0,23 – 0,44)	0,39 (IQR 0,28 – 0,44)	0,393
<i>AI/5</i> <sub>90</sub>	1,29 (IQR 0,81 – 1,58)	0,89 (IQR 0,69 – 1,01)	0,060

*AI*<sub>80</sub>, *AI*<sub>90</sub>, *A5*<sub>80</sub>, *A5*<sub>90</sub>, *AI/5*<sub>80</sub>, *AI/5*<sub>90</sub> – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razina intenziteta 80 ili 90 dB

IQR – interkvartilni raspon

**Tablica 5.6.** Amplitude prvog (*AI*) i petoga (*A5*) vala i omjeri amplituda (*AI/5*) valova slušnih potencijala moždanoga debla evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB u izloženih (*N* = 34) i kontrolnih (*N* = 26) sudionika muškoga spola

Značajka	Izloženi	Kontrolni	<i>P</i>
	<i>N</i> = 34	<i>N</i> = 26	
	$\mu\text{V}$		
<i>AI</i> <sub>80</sub>	0,22 (IQR 0,15 – 0,29)	0,30 (IQR 0,19 – 0,34)	0,059
<i>A5</i> <sub>80</sub>	0,40 (IQR 0,33 – 0,48)	0,40 (IQR 0,33 – 0,49)	0,283
<i>AI/5</i> <sub>80</sub>	0,67 (IQR 0,30 – 0,81)	0,66 (IQR 0,46 – 0,97)	0,929
<i>AI</i> <sub>90</sub>	0,22 (IQR 0,15 – 0,31)	0,28 (IQR 0,24 – 0,39)	0,038*
<i>A5</i> <sub>90</sub>	0,33 (IQR 0,27 – 0,44)	0,36 (IQR 0,32 – 0,42)	0,743
<i>AI/5</i> <sub>90</sub>	0,70 (IQR 0,44 – 1,03)	0,83 (IQR 0,64 – 1,05)	0,245

\* značajna razlika uz *P* < 0,05 (Mann-Whitneyjev *U* test)

*AI*<sub>80</sub>, *AI*<sub>90</sub>, *A5*<sub>80</sub>, *A5*<sub>90</sub>, *AI/5*<sub>80</sub>, *AI/5*<sub>90</sub> – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razina intenziteta 80 ili 90 dB

IQR – interkvartilni raspon

Amplituda prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB ( $P < 0,001$ ) i 90 dB ( $P = 0,010$ ), te omjer amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB ( $P = 0,002$ ) i 90 dB ( $P = 0,004$ ) značajno se razlikuju između muških i ženskih izloženih sudionika. Više podataka o razlikama u značajkama ABR-ova između muških i ženskih izloženih sudionika prikazano je u Tablici 5.7.

**Tablica 5.7.** Razlike u značajkama ABR-ova ( $AI$ ,  $A5$ ,  $AI/5$ ) evociranih klikom razine intenziteta 80 dB ili 90 dB između muških ( $N = 34$ ) i ženskih ( $N = 16$ ) izloženih sudionika

Značajka	Muškarci	Žene	$P$
	$N = 34$	$N = 16$	
	$\mu V$		
$AI_{80}$	0,21 (IQR 0,15 – 0,29)	0,36 (IQR 0,27 – 0,42)	$< 0,001^*$
$A5_{80}$	0,40 (IQR 0,33 – 0,48)	0,45 (IQR 0,37 – 0,54)	0,460
$AI/5_{80}$	0,67 (IQR 0,30 – 0,81)	0,87 (IQR 0,61 – 1,13)	0,010*
$AI_{90}$	0,22 (IQR 0,15 – 0,31)	0,38 (IQR 0,26 – 0,46)	0,002*
$A5_{90}$	0,33 (IQR 0,27 – 0,44)	0,34 (IQR 0,23 – 0,44)	0,724
$AI/5_{90}$	0,70 (IQR 0,44 – 1,03)	1,29 (IQR 0,81 – 1,58)	0,004*

\* značajna razlika uz  $P < 0,05$  (Mann-Whitneyjev  $U$  test)

$AI_{80}$ ,  $AI_{90}$ ,  $A5_{80}$ ,  $A5_{90}$ ,  $AI/5_{80}$ ,  $AI/5_{90}$  – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB

IQR – interkvartilni raspon

#### 5.4. Povezanost značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla s kortizonom i kortizolom u slini

U izloženih sudionika, uočena je značajna negativna korelacija između koncentracije kortizola i omjera amplituda prvog i petog vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB(A),  $\rho = -0,344$ ,  $P = 0,043$ . Korelacija između  $AI/5_{90}$  i koncentracije kortizona također je bila negativna, ali ne i značajna,  $\rho = -0,161$ ,  $P = 0,263$ . Više podataka o korelacijama između značajki ABR-ova i koncentracija analita prikazano je u Tablici 5.8.



**Tablica 5.8.** Korelacije između značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla (*AI*, *A5*, *AI/5*) i jutarnjih koncentracija kortizona i kortizola u izloženih sudionika ( $N = 50$ )

Značajka	Kortizon		Kortizol	
	Spearmanov $\rho$	<i>P</i>	Spearmanov $\rho$	<i>P</i>
<i>AI</i> <sub>80</sub>	-0,026	0,855	-0,091	0,602
<i>A5</i> <sub>80</sub>	0,244	0,088	-0,080	0,646
<i>AI/5</i> <sub>80</sub>	-0,197	0,171	0,029	0,870
<i>AI</i> <sub>90</sub>	-0,024	0,871	-0,184	0,289
<i>A5</i> <sub>90</sub>	0,205	0,152	0,162	0,352
<i>AI/5</i> <sub>90</sub>	-0,161	0,263	-0,344	0,043*

\* značajna korelacija uz  $P < 0,05$

*AI*<sub>80</sub>, *AI*<sub>90</sub>, *A5*<sub>80</sub>, *A5*<sub>90</sub>, *AI/5*<sub>80</sub>, *AI/5*<sub>90</sub> – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB

U izloženih sudionika, uočena je značajna negativna korelacija između dobi i amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB ( $\rho = -0,295$ ,  $P = 0,037$ ) ili 90 dB ( $\rho = -0,052$ ,  $P = 0,009$ ). Više podataka o povezanosti dobi sa značajkama ABR-ova i koncentracijama kortizona i kortizola u izloženih sudionika prikazano je u Tablici 5.9.

**Tablica 5.9.** Korelacije između dobi i jutarnjih koncentracija kortizona i kortizola te značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u izloženih sudionika ( $N = 50$ )

	Kortizon	Kortizol	<i>AI</i> <sub>80</sub>	<i>A5</i> <sub>80</sub>	<i>AI/5</i> <sub>80</sub>	<i>AI</i> <sub>90</sub>	<i>A5</i> <sub>90</sub>	<i>AI/5</i> <sub>90</sub>
$\rho$	0,020	0,092	-0,295*	-0,081	-0,052	-0,366*	-0,064	-0,212
<i>P</i>	0,890	0,600	0,037	0,576	0,719	0,009	0,660	0,140

\* značajna korelacija uz  $P < 0,05$

$\rho$  – Spearmanov koeficijent korelacije

*AI*<sub>80</sub>, *AI*<sub>90</sub>, *A5*<sub>80</sub>, *A5*<sub>90</sub>, *AI/5*<sub>80</sub>, *AI/5*<sub>90</sub> – amplitude prvoga i petoga vala te omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB

## 5.5. Statistički model za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom

U izradi regresijskog modela, ishod je bio rizik od ranoga profesionalnoga oštećenja sluha bukom (mali – veliki), a prediktori su bili kategorijske (spol) i kontinuirane (dob,  $AI_{80}$  i koncentracija kortizona) varijable, od kojih su značajni bili dob ( $P = 0,003$ ) i koncentracija kortizona ( $P < 0,001$ ). Više podataka o značajnosti pojedinih prediktora u odabranome regresijskom modelu prikazano je u Tablici 5.10.

**Tablica 5.10.** Razina značajnosti, omjeri izgleda i pripadajući intervali pouzdanosti pojedinih prediktora u regresijskom modelu za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom

	<i>P</i>	Omjer izgleda	Interval pouzdanosti
<b>Koncentracija kortizona</b>	< 0,001*	1,112	1,052 – 1,176
<b>Dob</b>	0,003*	1,380	1,115 – 1,708
<b>Spol</b>	0,251	1,841	0,649 – 5,224
<i>AI<sub>80</sub></i>	0,503	0,215	0,002 – 19,378

\* značajan prediktor uz  $P < 0,05$

*AI<sub>80</sub>* – amplituda prvoga ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB

Odabranim modelom objašnjeno je 46,1 % varijance zavisne varijable – rizika od ranoga oštećenja sluha bukom, Nagelkerkeov  $R^2 = 0,461$ . Model je statistički značajan ( $P < 0,001$ ), te klasificira 81,7 % sudionika istraživanja.

## **6. RASPRAVA**

### **6.1. Probir mladih odraslih osoba s velikim rizikom od oštećenja sluha bukom**

Valjanost probira sudionika ovoga istraživanja bila je uvjetovana konačnom ocjenom rizika od ranoga oštećenja sluha bukom. Rizik u naših sudionika primarno je bio okarakteriziran kao mali ili veliki sukladno radnoj dokumentaciji i izjavama studenata, radnika i stručnjaka za zaštitu i sigurnost na radu. Na temelju Megersoninog upitnika i komunikacije s navedenim sugovornicima bili su prikupljeni podaci o izloženosti sudionika buci – dnevna, tjedna, mjesečna i godišnja izloženost, vršna i ekvivalentna razina intenziteta buke, opis poslova, rukovanje bučnim alatima, te izloženost buci izvan mjesta rada (radnici) ili u slobodno vrijeme (studenti) – konačno je ocijenjen rizik, te je učinjen probir sudionika. Valjanost probira sudionika mogla je biti ograničena subjektivnošću procjene i samoprocjene izloženosti buci. Tijekom samoprocjene izloženosti, sudionici se prisjećaju epizoda velike izloženosti ili duljih razdoblja redovite izloženosti buci, što može iskriviti predodžbu o ukupnoj izloženosti buci u promatranome razdoblju. S druge strane, stručnjaci za zaštitu i sigurnost na radu zaključuju o izloženosti radnika buci na temelju radne dokumentacije, ali i na temelju subjektivnog doživljaja buke zbog redovitih obilazaka mjesta rada. Stoga je rizik u naših izloženih sudionika mogao biti podcijenjen zbog neredovite dozimetrije buke na mjestima rada, a u kontrolnih sudionika precijenjen zbog stečene navike o svakodnevnom izlaganju buci u slobodno vrijeme.

Razina intenziteta buke kojoj se izlažu radnici na mjestima rada standardno se objektivizira dozimetrijom. Valjanost dozimetrije buke određena je položajem dozimetra u prostoru u odnosu na radni proces. Kako jakost zvuka opada sa širenjem zvučnoga vala, bukomjer nije vrijedno postaviti izvan neposrednog radnog prostora, već u prostoru upotrebe bučnih alata ili izloženosti bučnim strojevima. Ako se u radnikovoj neposrednoj blizini nalazi više od jednog izvora zvuka, energija se amplificira, što je dodatni izazov u dozimetriji buke. Kompleksnosti mjerenja buke doprinosi i promjenjivost uvjeta rada, odnosno promjene u dnevnoj ili tjednoj izloženosti radnika buci. Upotreba novih bučnih uređaja u radu doprinosi povećanju razine intenziteta buke, smanjeni broj radnika povećava vrijeme izloženosti buci u pojedinog radnika, a instalacija akustičkih barijera smanjuje amplifikaciju buke na mjestima rada (118, 119). Prema podacima Agencije za zaštitu zdravlja i sigurnost na radu, nadzor buke dozimetrijom na mjestima rada u Sjedinjenim Američkim Državama 1979. – 2013. rezultirao je smanjenjem izloženosti buci tijekom razmatranoga razdoblja. Tek je proizvodna industrija

odolijevala pozitivnom trendu u istome razdoblju, održavajući ekvivalentnu razinu intenziteta buke iznad gornje upozoravajuće vrijednosti (120). Navedeno ukazuje da je neprekidan nadzor buke dozimetrijom neophodan u kolektivima s velikim rizikom od oštećenja sluha, usprkos pozitivnim primjerima smanjene izloženosti.

Valjanost podataka o izmjerenoj buci određena je i učestalošću mjerenja buke na pojedinim mjestima rada (121). Dio naših izloženih sudionika radio je u tvorničkim prostorima s brojnim bučnim alatima i strojevima, a podaci o izmjerenoj buci nalazili su se u dostupnim dokumentima procjene rizika. Dio dostupnih dokumenata bio je ažuriran, a dio nije bio, što je značilo tek informaciju o spektru štetnosti, opasnosti i napora na mjestima rada, a manje je poslužilo procjeni rizika. Naime, samo ažurirani dokumenti procjene rizika mjerodavni su dokumenti u procjeni općega rizika za zdravlje radnika (26). Slaba dostupnost ažuriranih dokumenata bila je u skladu s očekivanjima, te je kompenzirana razgovorom sa stručnjacima za zaštitu i sigurnost na radu i sudionicima istraživanja. No, u sudionika u kojih je obavljen uvid u ažurirane dokumente procjene rizika, bilo je razvidno da su obavljali poslove za koje je poznato da zahtijevaju rad u buci, te da je rizik od oštećenja sluha bio velik zbog izloženosti buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A). Podaci o procijenjenom riziku i izmjerenoj buci većinom su nedostajali u glazbenika. No, kako je od ranije prepoznat velik rizik od oštećenja sluha u glazbenika (122 – 125), razmotreno je njihovo uključivanje u istraživanje i bez uvida u dokument procjene rizika. Također, uključeni su glazbenici bili profesionalci koji su se redovito izlagali buci na probama i koncertima, te su stoga bili uključeni u istraživanje.

U ovome istraživanju nije bilo predviđeno anketiranje sudionika o upotrebi antifona, no zbog pomanjkanja podataka, valjanost probira sudionika bila je ograničena. Također, ranije je utvrđeno da su auditivni i ekstraauditivni učinci značajno izraženiji u osoba koje ne koriste antifone u odnosu na osobe koje ih koriste (126 – 128), što je moglo utjecati na značajnost razlika između ispitivanih značajki ABR-ova i između koncentracija analiziranih hormona.

Osim buke, u dokumentima procjene rizika nalazili su se i podaci o izloženosti sudionika kemikalijama za koje je dokazano toksičan učinak na unutarnje uho (4). Uvid u dokumente procjene rizika nije bio cjelovit, no na temelju razgovora sa stručnjakom za zaštitu i sigurnost na radu učinjen je probir radnih mjesta i odabir sudionika koji nisu mogli biti u neposrednom kontaktu s ototoksičnim kemikalijama. Iako u prethodnim istraživanjima nije razjašnjena povezanost izloženosti kemikalijama i razvoja kohlearne sinaptopatije, izloženost ototoksičnim kemikalijama bila je određena kao isključni kriterij u ovome istraživanju zbog ranije dokazanog destruktivnog djelovanja teških metala i kemikalija na osjetne stanice pužnice (49 – 51).

Nakon inicijalne ocjene rizika proveden je probir potencijalnih sudionika audiološkim ispitivanjem. Cilj probira bio je izdvojiti radnike i studente s urednim audiogramom u području frekvencija 0,25 – 8 kHz. Pragovi sluha nisu bili ispitani u području frekvencija većih od 8 kHz, čime je osjetljivost standardne tonske audiometrije u probiru bila smanjena (129, 130), a valjanost probira potencijalno ograničena. No, kako nije bila dijagnosticirana naglušost u području frekvencija 0,25 – 8 kHz, postavljena je pretpostavka o HHL-u u izloženih sudionika, odnosno odsustvu HHL-a u kontrolnih sudionika, bez ispitivanja praga sluha u području vrlo visokih frekvencija. Prema Mishri i suradnicima, u osoba koje su bile izložene buci, prag sluha na visokim frekvencijama (10 – 16 kHz) bio je povećan, a djelovanje buke na unutarnje uho bilo je potvrđeno smanjenom amplitudom DPOAE. Oslabljena otoakustička emisija bila je znak disfunkcije vanjskih stanica s cilijama (130), što je očekivan nalaz s obzirom na njihovu izraženu osjetljivost (47, 48). Također, kako buka najranije oštećuje bazalni zavoj pužnice (47), razumljiv je i nalaz povećanog praga sluha u području vrlo visokih frekvencija. Ipak, u starijih odraslih ne radi se o specifičnom audiometrijskom nalazu. Starenje uzrokuje promjene u bazalnom zavoj pužnice, koje rezultiraju sličnim audiometrijskim nalazima (130, 131). S druge strane, tonska audiometrija s proširenim frekvencijskim spektrom pokazala se kao osjetljiva metoda u osoba sa suspektnim oštećenjem sluha ototoksičnim lijekovima i kemikalijama (132, 133).

S obzirom na nejasnu kliničku sliku HHL-a (62), konačna ocjena o riziku od HHL-a zbog buke u naših sudionika nije bila donesena na temelju slušnih poteškoća, nego na temelju kvantificiranog rizika pomoću Megersoninog upitnika. Ipak, u osoba s velikim rizikom od HHL-a nerijetko je prisutan tinitus, a prema Jafari i suradnicima, ujedno je i povezan s povećanjem praga sluha u području visokih frekvencija (10 – 18 kHz) (129). Navedeno odgovara etiopatogenezi HHL-a zbog buke zbog povećanja praga sluha u području visokih frekvencija, odnosno potencijalne kohlearne sinaptopatije u području bazalnoga zavoja pužnice (47). Također, prethodno je istražena korelacija između tinitusa i izloženosti buci pomoću Megersoninog upitnika. U odnosu na studente bez tinitusa, studenti s tinitusom značajno su češće koristili slušalice i svirali instrumente, a osim tinitusa, češće su osjećali bol u ušima ili zaglušnost (134), što potvrđuje potencijalnu ulogu ispitivanja tinitusa u dijagnostici HHL-a. U osoba s velikim rizikom od HHL-a nerijetko su prisutne i poteškoće u razumijevanju govora, a prethodno je istražena njihova korelacija s izloženošću buci prema Megersoninu upitniku. U mladih odraslih osoba s urednim audiogramima uočena je pozitivna korelacija između izloženosti buci i otežanog razumijevanja govora (135), što potvrđuje povezanost izloženosti

buci i zamjedbenih poteškoća sluha, koje se ne mogu dijagnosticirati standardnom tonskom audiometrijom. Navedeno potvrđuje i istraživanje Tremblay i suradnika, koje je provedeno na 2783 sudionika u dobi 21 – 84 godine, a od kojih je 12 % bilo s urednim audiogramima i nespecifičnim slušnim poteškoćama. Slušne poteškoće vjerojatno su odgovarale HHL-u, no u nedostatku dijagnostičkih kriterija, dijagnozu nije bilo moguće potvrditi (60). Radilo se o nizu zamjedbenih poteškoća sluha zbog buke i/ili starenja, čija je uloga u karakteriziranju HHL-a i dalje dvojbeno. Ipak, podatak o 12 % osoba sa slušnim poteškoćama i urednim audiogramom potvrđuje ograničenost standardne tonske audiometrije u dijagnostici oštećenja sluha, te ukazuje na potrebu za razvojem novih dijagnostičkih metoda blagih slušnih poremećaja. Učinak starenja na kohlearne sinapse ograničava izbor metoda, no sinergistički učinak s bukom predviđen je u ovome istraživanju, te su stoga bili uključeni sudionici u dobi 19 – 30 godina.

Nakon kvantifikacije rizika od oštećenja sluha pomoću Megersoninog upitnika, većinom je bila potvrđena inicijalna ocjena rizika, usprkos slabostima samoprocjene izloženosti buci, heterogenoj izloženosti sudionika buci i heterogenim izvorima podataka o buci. Razina rizika bila je visoka tek u dvoje studenata koji nisu bili uključeni u istraživanje, što ukazuje na uspješan inicijalni probir radnika, te podcijenjen rizik u studenata nakon razgovora o izloženosti buci. U sudionika, u kojih je kvantificirana razina rizika odgovarala inicijalnoj, donesena je konačna ocjena rizika, te su uključeni u istraživanje kao izloženi ili kontrolni sudionici. Stoga je Megersonin upitnik pouzdan i valjan alat za identifikaciju mladih osoba s visokim rizikom od oštećenja sluha bukom, iako se temelji na samoprocjeni izloženosti buci. Izvorni jezik upitnika je engleski, a drugi prijevodi ne postoje ili nisu javno dostupni. U ovome istraživanju, upitnik je bio preveden na hrvatski jezik, nakon čega je prijevod bio raspravljen. Ponovno je bio preveden na izvorni jezik, a zatim drugi put preveden na hrvatski jezik, sukladno standardnom postupku jezične validacije upitnika. Pouzdanost prijevoda upitnika nije ispitana s obzirom na to da je svaki sudionik istraživanja samo jednom ispunio upitnik. Megersonin upitnik s tri čestice sažet je i jednostavan, što ga čini pogodnijim za primjenu u odnosu na dugotrajnu dozimetriju u bučnom okolišu. Ipak, razumno je očekivati slučajnu pogrešku u samoprocjeni izloženosti buci pomoću upitnika zbog prisjećanja izloženosti unazad godinu dana od uključivanja u istraživanje. Visoka razina rizika od oštećenja sluha bukom, prema popunjenim česticama Megersoninog upitnika, iznosi 5 ili više. Brojka 5 određena je nakon izrade niza statističkih modela, čiji su prediktori bili godišnja ekvivalentna izloženost buci i upotreba vatrenog oružja, a ishod je bila izračunata razina rizika. Nakon odabira modela s najvećom osjetljivošću i specifičnošću određena je brojka 5 kao granična razina visokoga

rizika. U izradi Megersoninog upitnika, sudionici s godišnjom ekvivalentnom izloženosti buci  $\geq 79$  dB(A) imali su visok rizik od oštećenja sluha, što ga čini osjetljivim za izložene sudionike ovoga istraživanja. Godišnja ekvivalentna izloženost buci prosječna je vrijednost koja obuhvaća izloženost buci na mjestu i izvan mjesta rada u razmatranome razdoblju (116).

Korelacija između izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom prethodno je istražena pomoću Megersoninog upitnika. Uočeno je da je amplituda prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta  $\geq 70$  dB negativno korelirala s izloženosti buci prema Megersoninu upitniku, dok je uz primjenu klika razine intenziteta  $< 70$  dB korelacija izostala (136). Također, negativna korelacija između izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova uočena je i u istraživanju Bramhall i suradnika, iako je bio korišten upitnik različit od Megersoninog (engl. *Lifetime Exposure of Noise and Solvents Questionnaire*, LENS-Q) (76). Negativnost korelacije između izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova u skladu je s negativnošću korelacije u životinja, u kojih je uočena povezanost između veće izloženosti buci i smanjene amplitude prvoga vala ABR-ova (47). Snaga korelacije između izloženosti buci prema Megersoninu upitniku i amplitude prvoga vala ABR-ova ovisi o razinama intenziteta primijenjenog klika, te je snaga najveća uz primjenu klika razine intenziteta 90 dB (136). Drugim riječima, razina intenziteta primijenjenog klika u evociranju ABR-ova utječe na osjetljivost ABR-ova u detekciji HHL-a. U istraživanju Bramhall i suradnika, također je uočena razlika u osjetljivosti ABR-ova u ljudi ovisno o razini intenziteta zvučnoga podražaja. Nakon primjene podražaja razine intenziteta 90 dB, amplitude prvoga vala bile su registrirane u svih sudionika istraživanja, što nije bio slučaj nakon primjene podražaja razine intenziteta 80 dB (76). U ovome istraživanju bio je primijenjen klik razina intenziteta 80 ili 90 dB, te su bile očitane amplitude prvoga vala ABR-ova u svih kontrolnih i izloženih sudionika. Stoga, radi se o vrlo varijabilnoj veličini, čije registriranje vjerojatno ovisi o intenzitetu primijenjenog zvučnoga podražaja u ispitivanju ABR-ova, iako to nije potvrđeno ovim istraživanjem. S druge strane, odsustvo razlike u amplitudi prvoga vala ABR-ova između izloženih i kontrolnih sudionika može ukazivati i na odsustvo kohlearne sinaptopatije u naših sudionika zbog potencijalno nedostatne izloženosti buci.

Amplitude prvoga vala ABR-ova ranije su registrirane i uz primjenu zvučnih podražaja razine intenziteta 80 dB (137). Međutim, radilo o *chirp*-u, koji se prethodno pokazao kao vrijedan zvučni podražaj u ispitivanju ABR-ova u radnika izloženih buci, zbog evociranja ABR-ova većih amplituda u odnosu na amplitude ABR-ova evociranih klikom (137, 138).

Snagu korelacije između izloženosti buci prema Megersoninu upitniku i amplitude prvoga vala ABR-ova odražava udio varijance amplitude prvoga vala, koja je objašnjena samoprocijenjenom izloženošću buci. Ranije je nađeno da je tek 20 % varijance amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB objašnjeno samoprocijenjenom izloženošću buci prema Megersoninu upitniku, te da udio iste varijance opada sa smanjenjem razine intenziteta primijenjenoga klika (136). Usprkos uočenoj negativnoj korelaciji između izloženosti buci prema Megersoninu upitniku i amplitude prvoga vala ABR-ova, relativno nizak udio objašnjene varijance amplitude ukazuje na slabost samoprocjene izloženosti buci u predikciji smanjene amplitude prvoga vala ABR-ova, odnosno HHL-a. Slabost korelacije između samoprocijenjene izloženosti buci i ABR-ova u HHL-u potvrđuje i odsustvo korelacije između izloženosti buci koja je utvrđena drugim upitnicima i amplitude prvoga vala ABR-ova. Naime, u istraživanju Prendergasta i suradnika, sudionici u dobi 18 – 36 godina ispunili su upitnik o izloženosti buci, koji je različit od Megersoninog, te su ABR-ovi bili evocirani pomoću klika razina intenziteta 80 – 100 dB. Većina izloženosti buci proizlazila je iz upotrebe slušalica, sviranja instrumenata te odlaženja u noćne klubove, a povezanost između izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova je izostala (139). U istraživanju Spankovicha i suradnika, povezanost između izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova također je izostala (140), što može biti povezano s izloženošću buci, koja većinom nije bila profesionalno uvjetovana, ili s upotrebom upitnika različitih od Megersoninog. U trećem istraživanju, korelacija je izostala i između izloženosti buci prema Megersoninu upitniku i dvaju drugih evociranih elektrofizioloških odgovora – amplitude elektrokohleografskog odgovora i DPOAE – čija je smanjena amplituda indikator HHL-a. Naime, sudionici su većinom bili izloženi buci u slobodno vrijeme, a elektrokohleografski odgovor bio je ispitan klikom te zvučnim podražajima frekvencija 2 – 4 kHz i razine intenziteta 70, 80 i 90 dB (141). Iako se u potonjem istraživanju (141) većinom radilo o neprofesionalnoj izloženosti buci relativno niske razine intenziteta, odsustvo istraživane korelacije dijelom ukazuje i na slabu osjetljivost Megersoninog upitnika u identifikaciji osoba s velikim rizikom od oštećenja sluha zbog izloženosti buci u slobodno vrijeme. U ovome istraživanju, samo je dvoje studenata, koji su bili kandidati za sudjelovanje u istraživanju, isključeno iz daljnjega probira sudionika zbog visoke razine rizika prema Megersoninom upitniku. U ostalih studenata, razina rizika od oštećenja sluha bukom bila je niska te u skladu s anamnezom, što potvrđuje valjanost probira studenata i testiranih razlika u značajkama ABR-ova između izloženih i kontrolnih sudionika istraživanja. Stoga, iako postoji ograničenost u probiru sudionika ovoga istraživanja, zbog samoprocjene izloženosti buci, ograničenost je kompenzirana mogućnošću uvida u radnu dokumentaciju,



razgovorom sa stručnjacima za zaštitu i sigurnost na radu te uključivanjem kontrolnih sudionika s referentnom izloženošću buci u mladih odraslih osoba.

U ovome istraživanju, značajka ABR-ova od interesa bila je omjer amplituda prvoga i petoga vala zbog očekivano manje interindividualne varijabilnosti u odnosu na amplitudu prvoga vala. Omjer amplituda prvoga i petoga vala nije se razlikovao između skupine izloženih i kontrolnih sudionika, neovisno o razinama intenziteta klika pomoću kojih su se evocirali ABR-ovi, što je vjerojatno bilo posredovano odsustvom razlike u amplitudama prvoga vala ABR-ova između skupina sudionika. Upotrebu omjera prvoga i petoga vala amplituda ABR-ova u ovome istraživanju podupire: uočeno odsustvo razlike u amplitudama petoga vala između skupina naših sudionika, te prethodno istraženo odsustvo korelacije između izloženosti buci prema Megersoninom upitniku i amplitude petoga vala (136). U istraživanju Bramhall i suradnika, korelacija između izloženosti buci i amplitude petoga vala ABR-ova također je izostala, a u evaluaciji izloženosti korišteni su drugi upitnici o izloženosti buci (76).

Stoga se nameće zaključak da je u istraživanjima povezanosti između izloženosti buci i značajki ABR-ova važnije kreirati skupinu sudionika s dovoljnom izloženošću buci (razina intenziteta, vrijeme i učestalost izlaganja) nego odabrati upitnik o izloženosti buci. U ovome istraživanju, upitnik o izloženosti buci nije upotrijebljen radi testiranja korelacije između godišnje ekvivalentne izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova, nego radi valjanoga probira mladih odraslih osoba s velikim rizikom od oštećenja sluha bukom i testiranja razlika u auditivnim i ekstraauditivnim učincima između osoba s različitom izloženošću buci. Glavni ograničavajući čimbenici u probiru sudionika bili su manjak valjanih i pouzdanih podataka o izloženosti buci u radnoj dokumentaciji, te subjektivnost procjene izloženosti.

## **6.2. Uloga analize koncentracije kortizona u slini i psihičkih napora u procjeni rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom**

U izloženih sudionika, koncentracija kortizona u slini bila je značajno veća nego u kontrolnih sudionika, te je korelirala s koncentracijom kortizola u slini. Korelacija između kortizona i kortizola u izloženih sudionika bila je značajna, pozitivna i snažna ( $\rho = 0,692$ ,  $P < 0,001$ ), dok je u kontrolnih sudionika bila gotovo značajna, također pozitivna, ali slaba ( $\rho = 0,317$ ,  $P = 0,052$ ).

Uočeno reaktivno povećanje koncentracije kortizona u slini u izloženih sudionika posljedica je stresne reakcije organizma na buku. Naime, izloženi i kontrolni sudionici nisu se značajno razlikovali u razini doživljenoga stresa, niti u izloženosti psihosocijalnim rizičnim čimbenicima na mjestu rada. Stoga je glavni stresor u skupini izloženih sudionika bila buka, kojoj su bili redovito i značajno više izloženi u odnosu na kontrolne sudionike, i to tijekom najviše dvije, a najmanje jedne godine radnoga staža. Značajno veća koncentracija kortizona u izloženih sudionika bila je uočena usprkos razlikama u izvorima zvuka i vrsti buke između izloženih sudionika, što ukazuje na veliki štetni potencijal analizirane buke neovisno o radnome mjestu. Također, radilo se o relativno dugotrajnoj izloženosti buci te posljedičnoj kroničnoj stresnoj reakciji, koja se manifestirala porastom jutarnje koncentracije kortizona u slini, što prethodno nije bilo zabilježeno. Sudionici obaju skupina uzorkovali su slinu na jednak način, neposredno nakon jutarnjeg buđenja, a uočena razlika, između ostalog ukazuje i na njihovu suradljivost, odnosno slijedenje uputa o uzorkovanju. Drugim riječima, uočeno povećanje koncentracije kortizona u izloženih sudionika nije povezano s naglim povećanjem koncentracije kortizola i kortizona nakon jutarnjeg buđenja, nego s izloženošću stresorima, odnosno buci. Ipak, kako sudionici nisu uzorkovali slinu u kontroliranim nego u kućnim uvjetima, vjerojatno je postojala inter- i intraindividualna razlika u vremenu uzorkovanja u odnosu na jutarnje buđenje, a što nije bilo moguće sa sigurnošću istražiti. Stoga je u ovome istraživanju, u odnosu na mnoga druga istraživanja (107, 108), uzorkovano više uzastopnih uzoraka sline po sudioniku, čime je osigurana značajno veća pouzdanost izmjerene koncentracije kortizona i kortizola u slini.

Uočena povezanost izloženosti buci i koncentracije kortizona u slini ne iznenađuje s obzirom na prethodno utvrđenu povezanost između izloženosti buci i jutarnje koncentracije kortizola u slini (108). Snagu uočene povezanosti buke i kortizona potvrđuje smjer, snaga i značajnost uočenih korelacija između koncentracija kortizona i kortizola u slini naših sudionika. Kako se kortizon u slini većinom sintetizira iz kortizola, snažna korelacija između koncentracija kortizona i kortizola u slini pokazatelj je sinkronizacije povećane aktivnosti osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda zbog buke i povećane enzimske konverzije kortizola u kortizon. U izloženih sudionika, koncentracija kortizona bila je 3,7 puta veća nego koncentracija kortizola u slini, što je u skladu s istraživanjem Blair i suradnika, prema kojem je koncentracija kortizona u slini veća oko 4 puta u odnosu na koncentraciju kortizola (91). Također, kortizon je bio određen u svih sudionika ovoga istraživanja, dok je kortizol bio određen u 35 od 50 izloženih i 38 od 54 kontrolnih sudionika. Navedeno ukazuje na veću dostupnost kortizona, a

time i superiornost u predikciji rizika od HHL-a. Drugim riječima, u procjeni prekomjerne izloženosti buci te rizika od HHL-a redundantno je istovremeno određivati koncentraciju kortizona i kortizola u slini.

U izloženih sudionika, nije bila uočena razlika u izloženosti psihičkim naporima između izloženih i kontrolnih sudionika, što povećava valjanost zaključka o povezanosti koncentracije kortizona s rizikom od ranoga oštećenja sluha bukom. Učinak psihičkih napora na koncentraciju kortizona zanemaren je u izloženih sudionika zbog većinom odsutne ili rjeđe negativne korelacije između izloženosti psihičkim naporima i izmjerenih koncentracija kortizona. Drugim riječima, s obzirom na odsustvo pozitivne korelacije između psihičkih napora na mjestu rada i koncentracije kortizona u izloženih sudionika, izgledno je da je uočeno povećanje koncentracije kortizona u izloženih sudionika većinom bilo uzrokovano bukom. Općenito govoreći, pozitivan smjer korelacije između izloženosti psihičkim naporima i koncentracije kortizola i kortizona ukazivali bi na zajednički doprinos buke i psihičkih napora u aktivaciji osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda i povećanju izlučivanja kortizola. S druge strane, negativan smjer uočene korelacije između razine doživljenog stresa i koncentracije kortizona iznenađuje s obzirom na prethodno istraženu pozitivnu korelaciju između koncentracije kortizola u slini i urinu te izloženosti psihičkim naporima prema upitnicima PSS i HSE (142, 143). Također, korelacija između koncentracije kortizola u slini i psihičkih napora prema upitniku PSS izostala je u drugih radnika (89, 144), što ukazuje na slabost spomenute pozitivne korelacije. U naših izloženih sudionika, korelacija između koncentracije kortizola i psihičkih napora prema upitnicima PSS i HSE nije bila uočena, što ukazuje na zanemariv utjecaj psihičkih napora na povećanu koncentraciju kortizola u slini, te umanjuje značaj uočene negativne korelacije između psihičkih napora i koncentracije kortizona u slini. Ipak, korelacijski koeficijent u korelaciji psihičkih napora i koncentracije kortizola također je bio negativan, iako nije bio značajan, što svakako ukazuje na biološku osnovanost negativnoga smjera korelacije između psihičkih napora i koncentracije kortizona, a ne na slučajan statistički nalaz u relativno malome uzroku sudionika. Drugim riječima, vjerojatno se radi o nepoznatoj karakteristici izloženih sudionika, koja je povezana s koncentracijom kortizona i kortizola, odnosno razinom doživljenog stresa. Higijena spavanja u izloženih sudionika nije ispitana u ovome istraživanju, a kada je narušena, povezana je s diurnalnim promjenama u izlučivanju kortizola (145). Alternativno objašnjenje negativne korelacije jest inter- i intraindividualna neusklađenost u vremenu jutarnjeg uzorkovanja sline. Naime, sudionici nisu uzorkovali slinu u isto zadano vrijeme, nego neposredno nakon jutarnjeg buđenja sukladno vlastitom ritmu spavanja, koji je

mogao biti narušen. Prethodno je opisan i utjecaj spola na izlučivanje kortizola, što bi moglo biti relevantno u skupini izloženih sudionika s obzirom na relativno veći broj muškaraca ( $N = 34$ ) u odnosu na žene ( $N = 16$ ). Također, ranije je uočeno i da je koncentracija metabolita kortizola u urinu veća u zdravih muškaraca nego u žena, kao i povećanje koncentracije kortizola zbog psihičkog stresa, koje je 1,5 – 2 puta veće nego u žena. U žena je aktivnost  $11\beta$ -hidroksisteroidne dehidrogenaze tipa 2 povećana zbog čega je konverzija kortizola u kortizon značajno veća nego u muškaraca (146, 147). Nasuprot rezultatima prethodnih istraživanja, u naših izloženih sudionika spolne razlike nisu bile uočene, što vjerojatno proizlazi iz ograničenosti statističke analize razlike između muškaraca i žena zbog maloga broja sudionika pojedinoga spola.

S obzirom na uočenu značajnu razliku u dobi između izloženih i kontrolnih sudionika, testirana je korelacija između dobi i koncentracije analiziranih hormona. U izloženih sudionika, dob nije korelirala s kortizonom i kortizolom, što je očekivan nalaz s obzirom na pripadnost sudionika skupini mladih odraslih osoba. Drugim riječima, utjecaj starenja na koncentracije kortizola i kortizona bio je zanemariv. Starenjem najčešće dolazi do povećanja sekrecije kortizola (148), što bi moglo interferirati s upotrebom koncentracije kortizola ili kortizona u procjeni rizika od oštećenja sluha bukom u starijih odraslih osoba. U starijih odraslih osoba, cirkadijani ritam izlučivanja kortizola nerijetko je narušen zbog izloženosti stresorima, a nagib dnevnoga pada koncentracije kortizola je zaravnjen. Također, smanjeno je i izlučivanje melatonina, što uzrokuje dodatne nepravilnosti u cirkadijanom ritmu izlučivanja kortizola. U starijih osoba slabi i negativna povratna sprega u izlučivanju kortizola, što povećava ukupnu koncentraciju kortizola. Također, starenjem raste i aktivnost  $11\beta$ -hidroksisteroidne dehidrogenaze u središnjem živčanom sustavu i perifernim tkivima, što utječe na promjene koncentracije razmatranih steroida (149). Stoga je primjena statističkog modela za predviđanje rizika od oštećenja sluha bukom, koji je izrađen u ovome istraživanju, ograničena na primjenu u mladih odraslih osoba.

Dob je i indirektan pokazatelj ukupne izloženosti buci u ovome istraživanju, što sugerira veću ukupnu izloženost buci u izloženih sudionika u odnosu na kontrolne. Stoga ne iznenađuje značajnost razlike u koncentracijama analiziranih hormona između izloženih i kontrolnih sudionika. Međutim, odsustvo korelacija između dobi i koncentracija hormona u skupini izloženih sudionika ukazuje na relativno sličan endokrini učinak buke, odnosno relativno malu razliku u endokrinom učinku zbog kratke izloženosti buci na mjestu rada. Alternativno, odsustvo korelacije ukazuje na slab endokrini učinak buke zbog relativno kratkog vremena

izlaganja te na potencijalno slabu osjetljivost jutarnje koncentracije kortizona u slini u procjeni rizika od oštećenja sluha bukom. Ukupna dnevna sekrecija kortizola može se odrediti nakon višestrukog uzorkovanja sline u danu, te je snažnije povezana s djelovanjem kroničnog stresa. Ipak, radi se o tehnički izazovnom i nepraktičnom postupku, koji može biti zamijenjen određivanjem koncentracije kortizona u kosi. Naime, prethodno je opažena povezanost između kroničnog stresa i povećane koncentracije kortizona u kosi (150, 151), što bi mogao biti alternativni biološki medij za istraživanje endokrinih učinaka buke.

### **6.3. Uloga značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u procjeni rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom**

Ispitane značajke ABR-ova u izloženih sudionika nisu se značajno razlikovale od značajki u kontrolnih sudionika, što ukazuje na ograničenost upotrebe amplituda prvoga te omjera amplituda prvoga i petoga vala u procjeni rizika od ranoga oštećenja sluha bukom u pojedinaca koji su izloženi buci ekvivalentne razine intenziteta veće od 85 dB(A). Ipak, s obzirom na razinu značajnosti razlike u amplitudi prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB ( $P = 0,063$ ), postoji osnova za razmatranje njene uloge u izradi statističkog modela za procjenu rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom. Također, amplituda prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razina intenziteta 80 i 90 dB slabo i negativno korelira s dobi izloženih sudionika. Navedeno ne ukazuje na učinak starenja na amplitudu, jer su sudionici u dobi 19 – 30 godina, već se radi o povezanosti amplitude prvoga vala ABR-ova s ukupnom izloženošću buci. Naime, vrijeme izloženosti buci u starijih izloženih sudionika vjerojatno je bilo dulje u odnosu na mlađe izložene sudionike, te je doprinijelo varijabilnosti nalaza značajki ABR-ova u uzorku izloženih sudionika. Iako su sudionici bili profesionalno izloženi buci tek 1 – 2 godine, vjerojatno je postojala razlika u izloženosti buci na mjestima rada, što je također moglo doprinijeti korelaciji između dobi i amplitude prvoga vala ABR-ova. Ekvivalentna razina intenziteta buke u izloženih sudionika iznosila je  $\geq 85$  dB(A), no izgledno je da su se radna mjesta razlikovala prema vršnim i ekvivalentnim razinama intenziteta buke, vrsti i broju izvora zvuka te udaljenosti sudionika od izvora zvuka. Izloženi sudionici vjerojatno su koristili antifone na različit način, što je također moglo doprinijeti heterogenosti u izloženosti buci sudionika, te uočenoj korelaciji između dobi i amplitude prvoga vala ABR-ova. Međutim, kako je korelacija između dobi i amplitude prvoga vala ABR-ova slaba, razmatranje dobi kao prediktora u statističkom modelu za predviđanje rizika od oštećenja sluha nije redundantno, dapače, osnovano je uz razmatranje amplitude prvoga vala kao

prediktora u istome modelu. S druge strane, korelacija dobi s omjerom amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova u izloženih sudionika bila je odsutna, što potvrđuje slabost uočene korelacije dobi s amplitudom prvoga vala, te umanjuje značajnost raspravljene razlike u izloženosti buci među radnicima u skupini izloženih sudionika.

Uočena je blaga i negativna korelacija između koncentracije kortizola i omjera amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB, čime je djelomično potvrđena hipoteza ovoga istraživanja. Naime, smjer uočene korelacije odgovara očekivanim biološkim učincima buke, odnosno sinkroniziranom povećanju koncentracije kortizola i smanjenju omjera amplitude prvoga i petoga vala ABR-ova zbog smanjenja amplitude prvoga vala. Ipak, dinamika povećanja koncentracije i istovremenog smanjenja omjera amplituda zbog buke prethodno nije istražena, zbog čega je otežano razjasniti realnu značajnost predmetne korelacije na početku profesionalne izloženosti sudionika buci. Slabost ove korelacije dodatno potvrđuje i odsustvo korelacije između analiziranih hormona i amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB te omjera amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB, kao i odsustvo korelacije između omjera amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova i koncentracije kortizona. Naime, koncentracije kortizona i kortizola snažno koreliraju, a odsustvo korelacije između jednog od hormona i druge varijable vjerojatnije ukazuju na snažnu korelaciju između koncentracija kortizona i kortizola, nego na pojedinačnu slabu korelaciju drugog hormona s drugom varijablom.

Stoga, radi se o izoliranoj značajnoj korelaciji u nizu ispitivanih kontrolnih korelacija, čija je značajnost najvjerojatnije zasnovana na ograničenosti statističke analize vrlo varijabilnih podataka na malim uzorcima sudionika, a tek sekundarno na realnoj povezanosti povećane koncentracije kortizola zbog buke i smanjenog omjera amplituda valova ABR-ova. Naime, u izloženih sudionika, interkvartilni rasponi omjera amplituda prvoga i petoga vala evociranih ABR-ova značajno su veći od interkvartilnih raspona pojedinih amplituda, i to 2 – 3 puta. Stoga je između malih uzoraka sudionika vjerojatnije uočiti značajnu razliku u omjerima amplituda nego u samim amplitudama, a uočena razlika pritom ne mora odgovarati stvarnoj razlici u populaciji. Ipak, statistički značajna razlika može se uočiti zbog slučajne ekscentrične raspodjele podataka između dvaju interkvartilnih raspona, koji vjerojatno pripadaju istom populacijskom rasponu.

Iako je uočena značajna razlika u amplitudi prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB između muških izloženih i kontrolnih sudionika, ista razlika nije bila

uočena između izloženih i kontrolnih sudionica istraživanja, što potencijalno ukazuje na veću izloženost buci u muških izloženih sudionika u odnosu na izložene sudionice ovoga istraživanja. Prema Stamper i Johnson, amplitude prvoga vala ABR-ova također su prosječno bile veće u žena nego u muškaraca (136). Razlici u veličini amplituda između muškaraca i žena doprinose prosječno manja glava i kraća pužnica u žena, što je vjerojatno povezano s bržim i sinkroniziranijim pobuđivanjem pužnice zvukom u žena, te povećanjem registrirane amplitude (152). Međutim, povezanost između samoprocijenjene izloženosti buci i amplitude prvoga vala ABR-ova u istraživanju Stamper i Johnson nađena je samo u žena, dok je u muškaraca ista povezanost izostala. U ovome istraživanju, povezanost između samoprocijenjene izloženosti buci prema Megersoninu upitniku i amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 90 dB uočena je samo muškaraca ( $P = 0,038$ ), dok je u žena povezanost izostala. Dakle, radi se o potencijalno većoj izloženosti buci u muških izloženih sudionika u odnosu na žene, koja je mogla uzrokovati smanjenje amplitude prvoga vala ABR-ova, odnosno kohlearnu sinaptopatiju ili HHL u muškaraca.

U skupini izloženih sudionika ovoga istraživanja, sudionice su također imale veće amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB u odnosu na muške sudionike. Također, omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom obiju razina intenziteta bili su značajno veći u izloženih sudionica nego u muških izloženih sudionika, što dodatno potvrđuje povezanost spola s značajkama ABR-ova. Drugim riječima, s obzirom na razlike u zanimanjima naših izloženih sudionika, izgledno je da su muški izloženi sudionici bili više izloženi buci i stoga s manjim amplitudama prvoga vala ABR-ova, što je u skladu s ranijim nalazima učestalijega oštećenja sluha bukom u muškaraca nego u žena (153).

Dakle, amplituda prvoga vala ABR-ova može se razmotriti u procjeni općeg ili populacijskog rizika od ranoga oštećenja sluha bukom u radnom kolektivu mladih odraslih osoba veličine ovoga uzorka, dok je ulogu omjera amplituda prvoga i petoga vala osnovano istražiti na većem uzorku sudionika izloženih buci visoke razine intenziteta. Na temelju slabosti uočenih korelacija i disperzije podataka o ispitanim značajkama u ovome istraživanju, može se zaključiti da primjena ABR-ova nije osnovana u procjeni individualnog rizika od ranoga oštećenja sluha bukom. S druge strane, većina nalaza o amplitudi prvoga vala konzistentna je s prethodnim nalazima, što potvrđuje osjetljivost klika razine intenziteta 80 ili 90 dB u evociranju ABR-ova s ciljem procjene općeg ili kolektivnog rizika od HHL-a.

#### **6.4. Izrada regresijskog modela za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom**

S obzirom na uočenu razliku u amplitudi prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB između izložene i kontrolne skupine sudionika uz razinu značajnosti manju ili jednaku 0,200 ( $P = 0,063$ ), te odsustvo korelacije između koncentracije kortizona u slini i amplitude prvoga vala i omjera amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB, amplituda prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB razmatrana je kao jedan od prediktora u izradi statističkog modela za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom.

Izračunati omjeri amplituda prvoga i petoga vala ABR-ova nisu bili prediktori u predmetnom modelu zbog odsustva značajne razlike, odnosno prevelike razine značajnosti u uočenoj razlici ( $> 0,200$ ) između dviju skupina sudionika (117).

Testiranjem psihičkih napora na mjestu i izvan mjesta rada utvrđen je potencijal koncentracije kortizona u slini u predviđanju ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom. S obzirom na izostanak pozitivne korelacije između psihičkih napora i koncentracije kortizona u slini, te značajnu razliku u koncentraciji kortizona u slini između dviju skupina sudionika, koncentracija kortizona razmotrena je kao jedan od prediktora u izradi predmetnog statističkog modela.

S obzirom na uočenu značajnu razliku u dobi između dviju skupina sudionika, teorijsku povezanost dobi i vremena izloženosti, utvrđeno odsustvo korelacije između dobi i kortizona, te usprkos značajnoj, ali slaboj negativnoj korelaciji između dobi i amplitude prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB, dob je također razmotrena kao jedan od prediktora uz koncentraciju kortizona u izradi predmetnog statističkog modela.

S obzirom na uočenu značajnu razliku u zastupljenosti muškaraca i žena između dviju skupina sudionika, odsustvo povezanosti između spola i koncentracije kortizona u slini, te usprkos značajnoj razlici u amplitudi prvoga vala ABR-ova evociranih klikom razine intenziteta 80 dB između muških i ženskih izloženih sudionika, spol je također razmotren kao jedan od prediktora uz dob i koncentraciju kortizona u izradi predmetnog statističkog modela.

Izrađeni statistički model uspješno je klasificirao čak 81,7 % sudionika istraživanja. Značajni prediktori u modelu bili su koncentracija kortizona i dob, dok preostala dva nisu bila značajna. S obzirom na omjere izgleda značajnih prediktora u modelu, vjerojatnost velikoga



rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom povećava se s jediničnim povećanjem jutarnje koncentracije kortizona u slini, i to za 11,2 %, te s jediničnim povećanjem dobi sudionika, i to za 38 %.

Iako je model bio statistički značajan, modelom s četiri prediktora bilo je objašnjeno tek nešto manje od polovice varijance rizika od oštećenja sluha. Stoga bi mjerenje koncentracije kortizona u slini moglo imati ulogu u procjeni individualnog rizika od ranoga oštećenja sluha bukom, dok ispitivanje značajki ABR-ova u vjerojatno nema ulogu u procjeni individualnoga rizika u osoba izloženih buci s obzirom na veliku interindividualnu varijabilnost.

Testiranje praga sluha tonskom audiometrijom na vrlo visokim frekvencijama, ispitivanje DPOAE, kohleostapesnog refleksa, upotreba upitnika o zamjedbenim slušnim poteškoćama te upitnika o navikama spavanja neki su od potencijalnih alata za unaprjeđenje budućih modela za predviđanje rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha bukom. Novim modelima unaprijedila bi se i dijagnostika ranoga oštećenja sluha bukom, kao i prevencija teške naglušnosti i gluhoće u osjetljivih pojedinaca.

## 7. ZAKLJUČAK

Rizik od ranoga oštećenja sluha bukom pozitivno je povezan s koncentracijom kortizona u slini, te nije povezan s omjerom amplituda prvoga i petoga vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u mladih odraslih osoba koje su profesionalno izložene buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A).

Amplituda prvoga vala te omjer amplituda prvoga i petoga vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla značajno su veći u žena nego u muškaraca koji rade u buci.

Kortizon u slini snažno korelira s kortizolom u slini, ne razlikuje se između muškaraca i žena koji rade u buci, ne korelira pozitivno s izloženošću psihičkim naporima, te je potencijalni biološki biljeg stresne reakcije uzrokovane bukom visoke razine intenziteta.

Rizik od ranoga profesionalnog oštećenja sluha može se procijeniti pomoću amplitude prvoga vala slušnih potencijala moždanoga debla evociranih klikom razine intenziteta 80 dB, koncentracije kortizona u slini, dobi i spola u mladih odraslih osoba.

U mladih odraslih osoba, koje su profesionalno izložene buci, amplituda prvoga vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla značajno se smanjuje s povećanjem dobi, odnosno ukupnom izloženošću buci.

Megersonin upitnik preveden na hrvatski jezik valjan je upitnik za probir mladih odraslih osoba s visokim rizikom od oštećenja sluha bukom.

Dakle, ovim istraživanjem doprinijelo se razumijevanju uloge istovremenog ispitivanja auditivnih i ekstraauditivnih učinaka buke u procjeni individualnog i općeg rizika od ranoga oštećenja sluha bukom. U budućim istraživanjima potrebno je longitudinalno ispitati promjene koncentracije kortizona i značajki evociranih slušnih potencijala moždanoga debla zbog buke radi minucioznije analize korelacije između auditivnih i ekstraauditivnih učinaka. Osim podataka o samoprocijenjenoj izloženosti buci, u budućim longitudinalnim istraživanjima valjalo bi razmotriti dozimetriju buke te prikupljanje podataka o upotrebi antifona. U narednim istraživanjima vrijedno bi bilo utvrditi i referentne intervale koncentracije kortizona u slini, koji bi bili povezani s razinom rizika od oštećenja sluha bukom.

## 8. SAŽETAK

Procjena rizika od ranoga profesionalnog oštećenja sluha osnova je zdravstvenog nadzora osoba koje rade u buci. Kako rano oštećenje sluha nije definirano dijagnostičkim kriterijima, nove neinvazivne metode za procjenu rizika i dijagnostiku kohlearne sinaptopatije predmet su aktualnih istraživanja. Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi povezanost ranoga oštećenja sluha s koncentracijom kortizona u slini i s omjerom amplituda prvoga i petoga vala evociranih slušnih potencijala moždanoga debla. Sudionici su bili radnici, koji su bili izloženi buci ekvivalentne razine intenziteta  $\geq 85$  dB(A) na mjestu rada 1 – 2 godine ( $N = 50$ ), te studenti ( $N = 54$ ) kao kontrolni sudionici. Tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti utvrđena je značajno veća koncentracija kortizona u slini u izloženih sudionika u odnosu na kontrolne, te pozitivna korelacija između rizika od oštećenja sluha bukom i kortizona u slini. Ispitivanjem slušnih potencijala moždanoga debla evociranih klikom razine intenziteta 80 ili 90 dB, nije nađena korelacija između rizika od ranoga oštećenja sluha bukom i omjera amplituda prvoga i petoga vala. Rizik od ranoga profesionalnog oštećenja sluha moguće je djelomično procijeniti pomoću amplitude prvoga vala slušnih potencijala moždanoga debla evociranih klikom razine intenziteta 80 dB, koncentracije kortizona u slini, dobi i spola u mladih odraslih osoba.

## 9. SUMMARY

The Role of Salivary Cortisone Concentration and Auditory Brainstem Response Characteristics in Assessment of the Early Occupational Noise-induced Hearing Loss Risk

*Roko Žaja, MD, 2024*

Assessment of the early occupational noise-induced hearing loss risk is fundamental for health surveillance of people who work in noise. As early hearing loss is not well-defined diagnosis, novel non-invasive diagnostic methods are subjects of the current studies of the cochlear synaptopathy. The aim of this research was to determine the correlation between early hearing loss and: salivary cortisone level and the amplitude ratio of the first and fifth wave of evoked auditory brainstem response. The participants were workers, who were exposed to occupational noise  $\geq 85$  dB(A) for 1 – 2 years ( $N = 50$ ), and students ( $N = 54$ ) as controls. High-performance liquid chromatography revealed a significantly higher salivary cortisone level in exposed participants compared to the controls, and a positive correlation between the risk and salivary cortisone level. By examining auditory brainstem response evoked by a click at 80 or 90 dB, no correlation was found between the risk and the amplitude ratio of the first and fifth wave. Early occupational noise-induced hearing loss risk can be partially predicted by salivary cortisone level, amplitude of the first wave of auditory brainstem response evoked by a click at 80 dB, age, and sex in young adults.

## 10. LITERATURA

1. Svjetska zdravstvena organizacija. World Report on Hearing [internet]. Ženeva: Svjetska zdravstvena organizacija; c2021 [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240020481>
2. Natarajan N, Batts S, Stankovic KM. Noise-Induced Hearing Loss. *J Clin Med*. 2023 Mar 17;12(6):2347.
3. Nelson DI, Nelson RY, Concha-Barrientos M, Fingerhut M. The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *Am J Ind Med*. 2005 Dec;48(6):446-58.
4. Pravilnik o izradi procjene rizika. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 112/2014 [internet], 24. 9. 2014. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014\\_09\\_112\\_2154.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_09_112_2154.html)
5. Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o izradi procjene rizika. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 129/2019 [internet], 31. 12. 2019. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_12\\_129\\_2615.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_12_129_2615.html)
6. Pravilnik o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 148/2023 [internet], 13. 12. 2023. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2023\\_12\\_148\\_2096.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2023_12_148_2096.html)
7. Regulation (OSHA) No 1910.95 of the Occupational and Safety Administration. Uredba, Electronic Code of Federal Regulations, 29 CFR Ch. XVII [internet], 1. 7. 2023. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Sjedinjene Američke Države). Dostupno na: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2023-title29-vol5/pdf/CFR-2023-title29-vol5-sec1910-95.pdf>
8. Knauert M, Jeon S, Murphy TE, Yaggi HK, Pisani MA, Redeker NS. Comparing average levels and peak occurrence of overnight sound in the medical intensive care unit on A-weighted and C-weighted decibel scales. *J Crit Care*. 2016 Dec;36:1-7.
9. Hellman R, Zwicker E. Why can a decrease in dB(A) produce an increase in loudness? *J Acoust Soc Am*. 1987 Nov;82(5):1700-5.
10. Axelsson A, Hamernik RP. Acute acoustic trauma. *Acta Otolaryngol*. 1987 Sep-Oct;104(3-4):225-33.

11. Mardassi A, Turki S, Mbarek H, Hachicha A, Benzarti S, Abouda M. Acute acoustic trauma: how to manage and how to prevent? *Tunis Med.* 2016 Nov;94(11):664.
12. Zakon o obveznom zdravstvenom osiguranju. *Zakon, Narodne novine, NN br. 80/2013* [internet], 28. 6. 2013. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_06\\_80\\_1666.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_80_1666.html)
13. Le Prell CG, Hackett TA, Ramachandran R. Noise-Induced Hearing Loss and its Prevention: Current Issues in Mammalian Hearing. *Curr Opin Physiol.* 2020 Dec;18:32-36.
14. Zakon o listi profesionalnih bolesti. *Zakon, Narodne novine, NN br. 162/1998* [internet], 22. 12. 1998. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1998\\_12\\_162\\_1994.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1998_12_162_1994.html)
15. Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o listi profesionalnih bolesti. *Zakon, Narodne novine, NN br. 107/2007* [internet], 19. 10. 2007. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007\\_10\\_107\\_3137.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007_10_107_3137.html)
16. Sliwińska-Kowalska M, Dudarewicz A, Kotyło P, Zamysłowska-Szmytke E, Pawlaczyk-Łuszczynska M, Gajda-Szadkowska A. Individual susceptibility to noise-induced hearing loss: choosing an optimal method of retrospective classification of workers into noise-susceptible and noise-resistant groups. *Int J Occup Med Environ Health.* 2006;19(4):235-45.
17. Rocha CH, Santos LH, Moreira RR, Neves-Lobo IF, Samelli AG. Effectiveness verification of an educational program about hearing protection for noise-exposed workers. *J Soc Bras Fonoaudiol.* 2011 Mar;23(1):38-43.
18. Samelli AG, Rocha CH, Theodósio P, Moreira RR, Neves-Lobo IF. Training on hearing protector insertion improves noise attenuation. *Codas.* 2015 Nov-Dec;27(6):514-9.
19. Yeşiltepe A, Karadağ G. The effect of occupational training provided to workers in a glass factory on their use of ear protectors. *Int J Occup Saf Ergon.* 2023 Mar;29(1):236-242.
20. Neitzel R, Somers S, Seixas N. Variability of real-world hearing protector attenuation measurements. *Ann Occup Hyg.* 2006 Oct;50(7):679-91.
21. Wagstaff AS, Woxen OJ. Double hearing protection and speech intelligibility-room for improvement. *Aviat Space Environ Med.* 2001 Apr;72(4):400-4.

22. Silva VAR, Guimarães AC, Lavinsky J, de Castro RF, Freitas PP, Castilho AM, i sur. Are hearing protection devices used in the workplace really efficient? A systematic review. *Work*. 2023;74(2):477-484.
23. Abel SM, Odell P. Sound attenuation from earmuffs and earplugs in combination: maximum benefits vs. missed information. *Aviat Space Environ Med*. 2006 Sep;77(9):899-904.
24. Gong W, Zhao L, Li L, Morata TC, Qiu W, Feng HA, i sur. Evaluating the Effectiveness of Earplugs in Preventing Noise-Induced Hearing Loss in an Auto Parts Factory in China. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jul 5;18(13):7190.
25. Sliwinska-Kowalska M. New trends in the prevention of occupational noise-induced hearing loss. *Int J Occup Med Environ Health*. 2020 Oct 20;33(6):841-848.
26. Zakon o zaštiti na radu. Zakon, Narodne novine, NN br. 71/2014 [internet], 11. 6. 2014. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014\\_06\\_71\\_1334.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_06_71_1334.html)
27. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Algoritam dijagnostičkog postupka za utvrđivanje profesionalne bolesti uzrokovane bukom [internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2020. [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: <https://www.hzzzsr.hr/wp-content/uploads/2020/06/Naglušost-algoritam-final.pdf>
28. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Registar profesionalnih bolesti [internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2023. [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: <https://www.hzzzsr.hr/wp-content/uploads/2023/04/Registar-profesionalnih-bolesti.pdf>
29. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Smjernice za obilazak radnog mjesta [internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2016. [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: <https://www.hzzzsr.hr/wp-content/uploads/2016/11/Smjernice-za-obilazak-radnog-mjesta.pdf>
30. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Kontrolna lista za obilazak ureda [internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2016. [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: <https://www.hzzzsr.hr/wp-content/uploads/2016/12/Kontrolna-lista-za-obilazak-radnog-mjesta-u-uredu.pdf>
31. Pravilnik o poslovima s posebnim uvjetima rada. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 5/1984 [internet], 14. 2. 1984. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na:

[https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/Pravilnik\\_o\\_poslovima\\_s\\_posebnim\\_uvjetima\\_rada.pdf](https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/Pravilnik_o_poslovima_s_posebnim_uvjetima_rada.pdf)

32. Gjørup T. Reliability of diagnostic tests. Acta Obstet Gynecol Scand Suppl. 1997;166:9-14.

33. ten Bosch JJ, Angmar-Månsson B. Characterization and validation of diagnostic methods. Monogr Oral Sci. 2000;17:174-89.

34. Pravilnik o zaštiti radnika od izloženosti opasnim kemikalijama na radu, graničnim vrijednostima izloženosti i biološkim graničnim vrijednostima. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 91/2018 [internet], 12. 10. 2018. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018\\_10\\_91\\_1774.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_10_91_1774.html)

35. Pravilnik o zaštiti na radu radnika izloženih statodinamičkim, psihofiziološkim i drugim naporima na radu. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 73/2021 [internet], 30. 6. 2021. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2021\\_06\\_73\\_1375.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2021_06_73_1375.html)

36. Pravilnik o uvjetima i mjerama zaštite od ionizirajućeg zračenja za obavljanje djelatnosti s izvorima ionizirajućeg zračenja. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 53/2018 [internet], 8. 6. 2018. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018\\_06\\_53\\_1062.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_06_53_1062.html)

37. Pravilnik o zaštiti radnika od izloženosti buci na radu. Pravilnik, Narodne novine, NN br. 46/2008 [internet], 23. 4. 2008. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008\\_04\\_46\\_1577.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_04_46_1577.html)

38. Direktiva 2003/10/EZ Europskog parlamenta i vijeća. Direktiva, Službeni list Europske unije, L 042/38 [internet], 6. 2. 2003. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Europska unija). Dostupno na: [https://publications.europa.eu/resource/ellar/d190beed-159a-4320-a27d-3877be067cda.0023.03/DOC\\_7](https://publications.europa.eu/resource/ellar/d190beed-159a-4320-a27d-3877be067cda.0023.03/DOC_7)

39. Bogadi-Sare A, Turk R. [Importance of risk assessment in occupational medicine]. Arh Hig Rada Toksikol. 1995 Sep;46(3):347-58. Hrvatski.

40. Brunčić T. Sigurnost i zaštita na radu: Iskustva s izradom i sadržajima procjene rizika. Kem. Ind. 2016;65(3-4):233-236. Hrvatski.



41. Chen KH, Su SB, Chen KT. An overview of occupational noise-induced hearing loss among workers: epidemiology, pathogenesis, and preventive measures. *Environ Health Prev Med.* 2020 Oct 31;25(1):65.
42. Neitzel RL, Fligor BJ. Risk of noise-induced hearing loss due to recreational sound: Review and recommendations. *J Acoust Soc Am.* 2019 Nov;146(5):3911.
43. Ivory R, Kane R, Diaz RC. Noise-induced hearing loss: a recreational noise perspective. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014 Oct;22(5):394-8.
44. Dehankar SS, Gaurkar SS. Impact on Hearing Due to Prolonged Use of Audio Devices: A Literature Review. *Cureus.* 2022 Nov 12;14(11):e31425.
45. Kurmis AP, Apps SA. Occupationally-acquired noise-induced hearing loss: a senseless workplace hazard. *Int J Occup Med Environ Health.* 2007;20(2):127-36.
46. Pravilnik o pravima, uvjetima i načinu ostvarivanja prava iz obveznog zdravstvenog osiguranja u slučaju ozljede na radu i profesionalne bolesti. Pravilnik, Narodne novine, NN 75/2014 [internet], 20. 6. 2014. [pristupljeno 31. 1. 2024.] (Hrvatska). Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014\\_06\\_75\\_1412.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_06_75_1412.html)
47. Liberman MC, Kujawa SG. Cochlear synaptopathy in acquired sensorineural hearing loss: Manifestations and mechanisms. *Hear Res.* 2017 Jun;349:138-147.
48. Furness DN. Molecular basis of hair cell loss. *Cell Tissue Res.* 2015 Jul;361(1):387-99.
49. Carlson K, Schacht J, Neitzel RL. Assessing ototoxicity due to chronic lead and cadmium intake with and without noise exposure in the mature mouse. *J Toxicol Environ Health A.* 2018;81(20):1041-1057.
50. Hoet P, Lison D. Ototoxicity of toluene and styrene: state of current knowledge. *Crit Rev Toxicol.* 2008;38(2):127-70.
51. Carreres Pons M, Chalansonnet M, Venet T, Thomas A, Nunge H, Merlen L, i sur. Carbon disulfide potentiates the effects of impulse noise on the organ of Corti. *Neurotoxicology.* 2017 Mar;59:79-87.
52. Kujawa SG, Liberman MC. Adding insult to injury: cochlear nerve degeneration after "temporary" noise-induced hearing loss. *J Neurosci.* 2009 Nov 11;29(45):14077-85.

53. Liberman MC, Dodds LW. Single-neuron labeling and chronic cochlear pathology. III. Stereocilia damage and alterations of threshold tuning curves. *Hear Res.* 1984 Oct;16(1):55-74.
54. Plack CJ, Léger A, Prendergast G, Kluk K, Guest H, Munro KJ. Toward a Diagnostic Test for Hidden Hearing Loss. *Trends Hear.* 2016 Sep 7;20:2331216516657466.
55. Olusanya BO, Davis AC, Hoffman HJ. Hearing loss grades and the International classification of functioning, disability and health. *Bull World Health Organ.* 2019 Oct 1;97(10):725-728.
56. C Kohrman D, Wan G, Cassinotti L, Corfas G. Hidden Hearing Loss: A Disorder with Multiple Etiologies and Mechanisms. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020 Jan 2;10(1):a035493.
57. Schaette R, McAlpine D. Tinnitus with a normal audiogram: physiological evidence for hidden hearing loss and computational model. *J Neurosci.* 2011 Sep 21;31(38):13452-7.
58. Vink HA, Ramekers D, Thomeer HGXM, Versnel H. Combined brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 treatment is preferred over either one separately in the preservation of the auditory nerve in deafened guinea pigs. *Front Mol Neurosci.* 2022 Sep 26;15:935111.
59. Wan G, Gómez-Casati ME, Gigliello AR, Liberman MC, Corfas G. Neurotrophin-3 regulates ribbon synapse density in the cochlea and induces synapse regeneration after acoustic trauma. *Elife.* 2014 Oct 20;3:e03564.
60. Tremblay KL, Pinto A, Fischer ME, Klein BE, Klein R, Levy S, et al. Self-Reported Hearing Difficulties Among Adults With Normal Audiograms: The Beaver Dam Offspring Study. *Ear Hear.* 2015 Nov-Dec;36(6):e290-9.
61. Vasudevamurthy S, Kumar AU. Middle Ear Muscle Reflex in Normal-Hearing Individuals with Occupational Noise Exposure. *Noise Health.* 2023 Jan-Mar;25(116):1-7.
62. Bajin MD, Dahm V, Lin VYW. Hidden hearing loss: current concepts. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2022 Oct 1;30(5):321-325.
63. Wojtczak M, Beim JA, Oxenham AJ. Weak Middle-Ear-Muscle Reflex in Humans with Noise-Induced Tinnitus and Normal Hearing May Reflect Cochlear Synaptopathy. *eNeuro.* 2017 Nov 27;4(6):ENEURO.0363-17.2017.

64. Moulin A, Bera JC, Collet L. Distortion product otoacoustic emissions and sensorineural hearing loss. *Audiology*. 1994 Nov-Dec;33(6):305-26.
65. Saremi A, Stenfelt S. The effects of noise-induced hair cell lesions on cochlear electromechanical responses: A computational approach using a biophysical model. *Int J Numer Method Biomed Eng*. 2022 May;38(5):e3582.
66. Kujawa SG, Liberman MC. Acceleration of age-related hearing loss by early noise exposure: evidence of a misspent youth. *J Neurosci*. 2006 Feb 15;26(7):2115-23.
67. Prieve BA, Thomas L, Long G, Talmadge C. Observations of Distortion Product Otoacoustic Emission Components in Adults With Hearing Loss. *Ear Hear*. 2020 May/Jun;41(3):652-662.
68. Dhruvakumar S, Shambhu T, Konadath S. Assessment of Hidden Hearing Loss in Individuals Exposed to Occupational Noise Using Cochlear, Neural, Temporal Functions and Quality of Life Measures. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2022 Aug;74(Suppl 1):524-531.
69. Lim HW, Kim EA, Chung JW. Audiological Follow-up Results after Newborn Hearing Screening Program. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2012 Jun;5(2):57-61.
70. Aihara N, Murakami S, Takahashi M, Yamada K. Preoperative characteristics of auditory brainstem response in acoustic neuroma with useful hearing: importance as a preliminary investigation for intraoperative monitoring. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2014;54(4):267-71.
71. Rishiq D, Harkrider A, Springer C, Hedrick M. Click-evoked and speech-evoked auditory brainstem responses from individuals with multiple sclerosis. *Neurosci Lett*. 2021 Jan 1;740:135460.
72. Wegner O, Dau T. Frequency specificity of chirp-evoked auditory brainstem responses. *J Acoust Soc Am*. 2002 Mar;111(3):1318-29.
73. Pushpalatha ZV, Konadath S. Auditory brainstem responses for click and CE-chirp stimuli in individuals with and without occupational noise exposure. *Noise Health*. 2016 Sep-Oct;18(84):260-265.
74. Norrix LW, Velenovsky D. Clinicians' Guide to Obtaining a Valid Auditory Brainstem Response to Determine Hearing Status: Signal, Noise, and Cross-Checks. *Am J Audiol*. 2018 Mar 8;27(1):25-36.

75. Sergeyenko Y, Lall K, Liberman MC, Kujawa SG. Age-related cochlear synaptopathy: an early-onset contributor to auditory functional decline. *J Neurosci*. 2013 Aug 21;33(34):13686-94.
76. Bramhall NF, Konrad-Martin D, McMillan GP, Griest SE. Auditory Brainstem Response Altered in Humans With Noise Exposure Despite Normal Outer Hair Cell Function. *Ear Hear*. 2017 Jan/Feb;38(1):e1-e12.
77. Konrad-Martin D, Dille MF, McMillan G, Griest S, McDermott D, Fausti SA, i sur. Age-related changes in the auditory brainstem response. *J Am Acad Audiol*. 2012 Jan;23(1):18-35; quiz 74-5.
78. Viana LM, O'Malley JT, Burgess BJ, Jones DD, Oliveira CA, Santos F, i sur. Cochlear neuropathy in human presbycusis: Confocal analysis of hidden hearing loss in post-mortem tissue. *Hear Res*. 2015 Sep;327:78-88.
79. Lee Y, Lee S, Lee W. Occupational and Environmental Noise Exposure and Extra-Auditory Effects on Humans: A Systematic Literature Review. *Geohealth*. 2023 Jun 7;7(6):e2023GH000805.
80. Guo X, Davies HW, Karim ME. The intensity and duration of occupational noise exposure and cardiovascular disease in the United States: a nationally representative study, 2015 to 2020. *Ann Work Expo Health*. 2024 Jan 8;68(1):36-47.
81. Sørensen M, Andersen ZJ, Nordsborg RB, Becker T, Tjønneland A, Overvad K, i sur. Long-term exposure to road traffic noise and incident diabetes: a cohort study. *Environ Health Perspect*. 2013 Feb;121(2):217-22.
82. Ising H, Braun C. Acute and chronic endocrine effects of noise: Review of the research conducted at the Institute for Water, Soil and Air Hygiene. *Noise Health*. 2000;2(7):7-24.
83. Ghotbi MR, Khanjani N, Barkhordari A, Rahimi Moghadam S, Mozaffari A, Gozashti MH. Changes in urinary catecholamines in response to noise exposure in workers at Sarcheshmeh Copper Complex, Kerman, Iran. *Environ Monit Assess*. 2013 Nov;185(11):8809-14.
84. Michaud DS, Thomson EM, van Oosterhout P, McNamee JP. Hair cortisol as a viable tool for the assessment of an association between environmental noise exposure and chronic stress. *J Acoust Soc Am*. 2022 Aug;152(2):866.

85. Davison B, Singh GR, McFarlane J. Hair cortisol and cortisone as markers of stress in Indigenous and non-Indigenous young adults. *Stress*. 2019 Mar;22(2):210-220.
86. Planert J, Klucken T, Finke JB, Paulus PC, Fischer JE, Gao W, i sur. Associations between hair cortisol and subjective stress measures in a large occupational sample. *Psychoneuroendocrinology*. 2023 Jun;152:106086.
87. La Marca R, Schneider S, Jenni G, Kühne F, Holtforth MG, Wettstein A. Associations between stress, resources, and hair cortisol concentration in teachers. *Psychoneuroendocrinology*. 2023 Aug;154:106291.
88. Pouryaghoub G, Mehrdad R, Valipouri A. Effect of Acute Noise Exposure on Salivary Cortisol: A Randomized Controlled Trial. *Acta Med Iran*. 2016 Oct;54(10):657-661.
89. Mikkelsen S, Forman JL, Fink S, Vammen MA, Thomsen JF, Grynderup MB, i sur. Prolonged perceived stress and saliva cortisol in a large cohort of Danish public service employees: cross-sectional and longitudinal associations. *Int Arch Occup Environ Health*. 2017 Nov;90(8):835-848.
90. Walvekar SS, Ambekar JG, Devaranavadagi BB. Study on serum cortisol and perceived stress scale in the police constables. *J Clin Diagn Res*. 2015 Feb;9(2):BC10-4.
91. Blair J, Adaway J, Keevil B, Ross R. Salivary cortisol and cortisone in the clinical setting. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2017 Jun;24(3):161-168.
92. Debono M, Harrison RF, Whitaker MJ, Eckland D, Arlt W, Keevil BG, i sur. Salivary Cortisone Reflects Cortisol Exposure Under Physiological Conditions and After Hydrocortisone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Apr;101(4):1469-77.
93. Fouladi Dehaghi B, Khademian F, Ahmadi Angali K. Non-auditory effects of industrial chronic noise exposure on workers; change in salivary cortisol pattern. *J Prev Med Hyg*. 2021 Jan 14;61(4):E650-E653.
94. Garde AH, Hansen AM. Long-term stability of salivary cortisol. *Scand J Clin Lab Invest*. 2005;65(5):433-6.
95. Shimada M, Takahashi K, Ohkawa T, Segawa M, Higurashi M. Determination of salivary cortisol by ELISA and its application to the assessment of the circadian rhythm in children. *Horm Res*. 1995;44(5):213-7.

96. Hiramatsu R. Direct assay of cortisol in human saliva by solid phase radioimmunoassay and its clinical applications. *Clin Chim Acta*. 1981 Dec 9;117(2):239-49.
97. Hansen AM, Garde AH, Christensen JM, Eller NH, Netterstrøm B. Evaluation of a radioimmunoassay and establishment of a reference interval for salivary cortisol in healthy subjects in Denmark. *Scand J Clin Lab Invest*. 2003;63(4):303-10.
98. Chen LQ, Kang XJ, Sun J, Deng JJ, Gu ZZ, Lu ZH. Application of nanofiber-packed SPE for determination of salivary-free cortisol using fluorescence precolumn derivatization and HPLC detection. *J Sep Sci*. 2010 Aug;33(15):2369-75.
99. Okumura T, Nakajima Y, Takamatsu T, Matsuoka M. Column-switching high-performance liquid chromatographic system with a laser-induced fluorimetric detector for direct, automated assay of salivary cortisol. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1995 Aug 4;670(1):11-20.
100. De Palo EF, Antonelli G, Benetazzo A, Prearo M, Gatti R. Human saliva cortisone and cortisol simultaneous analysis using reverse phase HPLC technique. *Clin Chim Acta*. 2009 Jul;405(1-2):60-5.
101. Jones RL, Owen LJ, Adaway JE, Keevil BG. Simultaneous analysis of cortisol and cortisone in saliva using XLC-MS/MS for fully automated online solid phase extraction. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2012 Jan 15;881-882:42-8.
102. Vieira JG, Nakamura OH, Carvalho VM. Determination of cortisol and cortisone in human saliva by a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Nov;58(8):844-50.
103. Mezzullo M, Fanelli F, Fazzini A, Gambineri A, Vicennati V, Di Dalmazi G, i sur. Validation of an LC-MS/MS salivary assay for glucocorticoid status assessment: Evaluation of the diurnal fluctuation of cortisol and cortisone and of their association within and between serum and saliva. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016 Oct;163:103-12.
104. Matanović M. Primjena separacijskih metoda u analitičkoj kemiji [završni rad na internetu]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju; 2020 [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: <https://repozitorij.kemija.unios.hr/islandora/object/kemos%3A407>
105. Malenica D. Analiza realnih uzoraka vode ionskom kromatografijom [diplomski rad na internetu]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije; 2016

[pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na:  
<https://repozitorij.fkit.unizg.hr/en/islandora/object/fkit%3A295>

106. Rotenberg S, McGrath JJ, Roy-Gagnon MH, Tu MT. Stability of the diurnal cortisol profile in children and adolescents. *Psychoneuroendocrinology*. 2012 Dec;37(12):1981-9.
107. Baudin C, Lefèvre M, Selander J, Babisch W, Cadum E, Carlier MC, i sur. Saliva cortisol in relation to aircraft noise exposure: pooled-analysis results from seven European countries. *Environ Health*. 2019 Nov 27;18(1):102.
108. Selander J, Bluhm G, Theorell T, Pershagen G, Babisch W, Seiffert I, i sur. HYENA Consortium. Saliva cortisol and exposure to aircraft noise in six European countries. *Environ Health Perspect*. 2009 Nov;117(11):1713-7.
109. Oginska H, Fafrowicz M, Golonka K, Marek T, Mojsa-Kaja J, Tucholska K. Chronotype, sleep loss, and diurnal pattern of salivary cortisol in a simulated daylong driving. *Chronobiol Int*. 2010 Jul;27(5):959-74.
110. Tsai JC, Chou KR, Tsai HT, Yen YC, Niu SF. Effects of Nocturnal Sleep Quality on Diurnal Cortisol Profiles and Attention in Nurses: A Cross-Sectional Study. *Biol Res Nurs*. 2019 Oct;21(5):510-518.
111. Stokholm ZA, Hansen ÅM, Grynderup MB, Bonde JP, Christensen KL, Frederiksen TW, i sur. Recent and long-term occupational noise exposure and salivary cortisol level. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Jan;39:21-32.
112. Braun LT, Vogel F, Zopp S, Rubinstein G, Schilbach K, Künzel H, i sur. Diurnal Salivary Cortisol Profiles in Patients with Cushing's Syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2022 Jul;130(7):434-438.
113. Antonelli G, Ceccato F, Artusi C, Marinova M, Plebani M. Salivary cortisol and cortisone by LC-MS/MS: validation, reference intervals and diagnostic accuracy in Cushing's syndrome. *Clin Chim Acta*. 2015 Dec 7;451(Pt B):247-51.
114. Roland BL, Funder JW. Localization of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in rat tissues: *in situ* studies. *Endocrinology*. 1996 Mar;137(3):1123-8.
115. Cooper MS, Stewart PM. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and its role in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, metabolic syndrome, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Dec;94(12):4645-54.

116. Megeson SC. Development of a screening tool for identifying young people at risk for noise-induced hearing loss [disertacija na Internetu]. Kansas: Sveučilište u Kansasu; 2010 [pristupljeno 31. 1. 2024.]. Dostupno na: [https://kuscholarworks.ku.edu/bitstream/handle/1808/6931/Megerson\\_ku\\_0099D\\_11086\\_DA\\_TA\\_1.pdf;sequence=1](https://kuscholarworks.ku.edu/bitstream/handle/1808/6931/Megerson_ku_0099D_11086_DA_TA_1.pdf;sequence=1)
117. Ranganathan P, Pramesh CS, Aggarwal R. Common pitfalls in statistical analysis: Logistic regression. *Perspect Clin Res.* 2017 Jul-Sep;8(3):148-151.
118. Lowry DM, Fritschi L, Mullins BJ. Occupational noise exposure of utility workers using task based and full shift measurement comparisons. *Heliyon.* 2022 Jun 22;8(6):e09747.
119. Zhang M, Zeng A, Xin J, Gao X, Qiu W, Sun X. Measurement of Non-Steady Noise and Assessment of Occupational Hearing Loss Based on the Temporal Structure of Noise. *China CDC Wkly.* 2023 Jan 20;5(3):63-67.
120. Sayler SK, Roberts BJ, Manning MA, Sun K, Neitzel RL. Patterns and trends in OSHA occupational noise exposure measurements from 1979 to 2013. *Occup Environ Med.* 2019 Feb;76(2):118-124.
121. McTague MF, Galusha D, Dixon-Ernst C, Kirsche SR, Slade MD, Cullen MR, i sur. Impact of daily noise exposure monitoring on occupational noise exposures in manufacturing workers. *Int J Audiol.* 2013 Feb;52 Suppl 1(0 1):S3-8.
122. Westmore GA, Eversden ID. Noise-induced hearing loss and orchestral musicians. *Arch Otolaryngol.* 1981 Dec;107(12):761-4.
123. Phillips SL, Henrich VC, Mace ST. Prevalence of noise-induced hearing loss in student musicians. *Int J Audiol.* 2010 Apr;49(4):309-16.
124. Jansen EJ, Helleman HW, Dreschler WA, de Laat JA. Noise induced hearing loss and other hearing complaints among musicians of symphony orchestras. *Int Arch Occup Environ Health.* 2009 Jan;82(2):153-64.
125. Pouryaghoub G, Mehrdad R, Pourhosein S. Noise-Induced hearing loss among professional musicians. *J Occup Health.* 2017 Jan 24;59(1):33-37.
126. Sudo A, Nguyen AL, Jonai H, Matsuda S, Villanueva MB, Sotoyama M, i sur. Effects of earplugs on catecholamine and cortisol excretion in noise-exposed textile workers. *Ind Health.* 1996;34(3):279-86.



127. Kraaijenga VJ, Ramakers GG, Grolman W. The Effect of Earplugs in Preventing Hearing Loss From Recreational Noise Exposure: A Systematic Review. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016 Apr;142(4):389-94.
128. Ramakers GG, Kraaijenga VJ, Cattani G, van Zanten GA, Grolman W. Effectiveness of Earplugs in Preventing Recreational Noise-Induced Hearing Loss: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016 Jun 1;142(6):551-8.
129. Jafari Z, Baguley D, Kolb BE, Mohajerani MH. A Systematic Review and Meta-Analysis of Extended High-Frequency Hearing Thresholds in Tinnitus With a Normal Audiogram. *Ear Hear.* 2022 Nov-Dec 01;43(6):1643-1652.
130. Mishra SK, Saxena U, Rodrigo H. Extended High-frequency Hearing Impairment Despite a Normal Audiogram: Relation to Early Aging, Speech-in-noise Perception, Cochlear Function, and Routine Earphone Use. *Ear Hear.* 2022 May/Jun;43(3):822-835.
131. Bowl MR, Dawson SJ. Age-Related Hearing Loss. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2019 Aug 1;9(8):a033217.
132. Stevenson LJ, Biagio-de Jager L, Graham MA, Swanepoel W. Extended High-Frequency Audiometry for Ototoxicity Monitoring: A Longitudinal Evaluation of Drug-Resistant Tuberculosis Treatment. *Am J Audiol.* 2023 Mar;32(1):70-80.
133. Lough M, Plack CJ. Extended high-frequency audiometry in research and clinical practice. *J Acoust Soc Am.* 2022 Mar;151(3):1944.
134. Musleh A, Saad Alzahrani S, Al Shehri TK, Mohammed Abdullah Alqahtani S, Yahya Ali Yahya S, Oudah Saeed AlShahrani A. The Magnitude and Determinants of Tinnitus among Health Science Students at King Khalid University. *ScientificWorldJournal.* 2020 Mar 27;2020:3071657.
135. Bhatt IS, Dias R, Wineinger N, Pratt S, Wang J, Washnik N, i sur. AudioChip: A Deep Phenotyping Approach for Deconstructing and Quantifying Audiological Phenotypes of Self-Reported Speech Perception Difficulties. *Ear Hear.* 2022 May/Jun;43(3):1023-1036.
136. Stamper GC, Johnson TA. Auditory function in normal-hearing, noise-exposed human ears. *Ear Hear.* 2015 Mar-Apr;36(2):172-84.
137. Megha KN, Divyashree KN, Lakshmi A, Adithya S, Keerthana KP, Pushpalatha ZV, i sur. Narrow-band chirp and tone burst auditory brainstem response as an early indicator of

synaptopathy in industrial workers exposed to occupational noise. *Intractable Rare Dis Res.* 2019 Aug;8(3):179-186.

138. Pushpalatha ZV, Konadath S. Auditory brainstem responses for click and CE-chirp stimuli in individuals with and without occupational noise exposure. *Noise Health.* 2016 Sep-Oct;18(84):260-265.

139. Prendergast G, Guest H, Munro KJ, Kluk K, Léger A, Hall DA, i sur. Effects of noise exposure on young adults with normal audiograms I: Electrophysiology. *Hear Res.* 2017 Feb;344:68-81.

140. Spankovich C, Le Prell CG, Lobarinas E, Hood LJ. Noise History and Auditory Function in Young Adults With and Without Type 1 Diabetes Mellitus. *Ear Hear.* 2017 Nov/Dec;38(6):724-735.

141. Grinn SK, Wiseman KB, Baker JA, Le Prell CG. Hidden Hearing Loss? No Effect of Common Recreational Noise Exposure on Cochlear Nerve Response Amplitude in Humans. *Front Neurosci.* 2017 Sep 1;11:465.

142. De Sio S, Letizia C, Petramala L, Saracino V, Cedrone F, Sanguigni P, i sur. Work-related stress and cortisol levels: is there an association? Results of an observational study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018 Dec;22(24):9012-9017.

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

144. Canuto R, Garcez A, Spritzer PM, Olinto MTA. Associations of perceived stress and salivary cortisol with the snack and fast-food dietary pattern in women shift workers. *Stress.* 2021 Nov;24(6):763-771.

145. O'Byrne NA, Yuen F, Butt WZ, Liu PY. Sleep and Circadian Regulation of Cortisol: A Short Review. *Curr Opin Endocr Metab Res.* 2021 Jun;18:178-186.

146. Raven PW, Taylor NF. Sex differences in the human metabolism of cortisol. *Endocr Res.* 1996 Nov;22(4):751-5.

147. Kirschbaum C, Wüst S, Hellhammer D. Consistent sex differences in cortisol responses to psychological stress. *Psychosom Med.* 1992 Nov-Dec;54(6):648-57.

148. Lavretsky H, Newhouse PA. Stress, inflammation, and aging. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2012 Sep;20(9):729-33.
149. Yiallouris A, Tsioutis C, Agapidaki E, Zafeiri M, Agouridis AP, Ntourakis D, i sur. Adrenal Aging and Its Implications on Stress Responsiveness in Humans. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Feb 7;10:54.
150. Ren Y, Liu Y, Zhao X, Hu W, Wei Z, Tang Z, i sur. Hair Cortisone Predicts Lower Stress-induced Salivary Cortisol Response: Resting-state Functional Connectivity Between Salience and Limbic Networks. *Neuroscience*. 2023 May 1;517:61-69.
151. Mirzaian M, van Zundert SKM, Schilleman WF, Mohseni M, Kuckuck S, van Rossum EFC, i sur. Determination of cortisone and cortisol in human scalp hair using an improved LC-MS/MS-based method. *Clin Chem Lab Med*. 2023 Jul 25;62(1):118-127.
152. Mitchell C, Phillips DS, Trune DR. Variables affecting the auditory brainstem response: audiogram, age, gender and head size. *Hear Res*. 1989 Jun 15;40(1-2):75-85.
153. Wang Q, Wang X, Yang L, Han K, Huang Z, Wu H. Sex differences in noise-induced hearing loss: a cross-sectional study in China. *Biol Sex Differ*. 2021 Mar 6;12(1):24.

## 11. ŽIVOTOPIS

Roko Žaja rođen je 3. prosinca 1992. u Koprivnici, Hrvatska. Specijalist je medicine rada i sporta s položenim ispitom iz medicine rada Europske udruge liječnika specijalista, te asistent na Katedri za zdravstvenu ekologiju i medicinu rada i sporta Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Pohađao je Osnovnu školu Antun Nemčić Gostovinski, Umjetničku školu Fortunat Pintarić (smjer klavir) i Gimnaziju Fran Galović (prirodoslovno – matematički smjer) u Koprivnici, Hrvatska, te Glazbenu školu u Varaždinu (smjer klavir i smjer orgulje) u Varaždinu, Hrvatska. Zvanje doktora medicine stekao je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Pripravnički liječnički staž odradio je u Kliničkom bolničkom centru Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska.

Dobitnik je međurazrednog priznanja za najboljeg učenika u generaciji u osnovnoj školi, te četiriju godišnjih međurazrednih priznanja za najboljeg učenika u generaciji u srednjoj školi. Na državnom natjecanju iz orgulja osvojio je prvo mjesto. Dobitnik je dviju dekanovih nagrada na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu – dekanove nagrade za odličan (5,0) uspjeh na 2. godini studija medicine te posebne dekanove nagrade za sudjelovanje u radu Pjevačkog zbora studenata medicine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu *Lege artis*. Tijekom studiranja bio je stipendist Grada Koprivnice, Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta Vlade Republike Hrvatske, te Sveučilišta u Zagrebu.

Aktivni je korisnik engleskog jezika te poznavatelj osnova njemačkog i španjolskog jezika. Aktivno koristi informatičke programe paketa MS Office te programe za statističku obradu podataka.

Autor je 14 znanstvenih radova. Nastavnik je na integriranom prijediplomskom i diplomskom studiju medicine, studiju medicine na engleskom jeziku te na diplomskom studiju sestrištva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## PRILOZI

**Prilog 1.** Megersonin upitnik za probir mladih odraslih osoba s visokim rizikom od oštećenja sluha bukom

Upitnik sadrži tri čestice s pitanjima o Vašoj izloženosti buci na mjestu i izvan mjesta rada tijekom prethodnih 12 mjeseci. Molimo Vas da odgovorite na pitanja odabirom jednog ponuđenog odgovora (0 – 4).

<i>nikad (0), svakih nekoliko mjeseci (1), svaki mjesec (2), svaki tjedan (3), svaki dan (4)</i>						
1.	Koliko ste često bili u blizini ili ste pucali iz vatrenog oružja (npr. puška, pištolj, sačmarica)?	0	1	2	3	4
2.	Koliko ste često bili izloženi glasnome zvuku* na poslu za koji ste plaćeni?	0	1	2	3	4
3.	Koliko ste često bili izloženi drugim izvorima glasnoga zvuka* (npr. zvukovi električnih alata, kosilica za travu, ili glasna glazba)?	0	1	2	3	4

\* Glasni zvuk odnosi se na zvuk zbog kojeg ste morali vikati ili govoriti povišenim tonom da Vas se čuje na udaljenosti duljine Vaše ruke.

### Upute za bodovanje

U prvoj čestici, odgovor *nikada* iznosi nula bodova, *svakih nekoliko mjeseci* tri boda, *svaki mjesec* šest bodova, *svaki tjedan* devet bodova i *svaki dan* dvanaest bodova. U drugoj i trećoj čestici, odgovor *nikada* iznosi nula bodova, *svakih nekoliko mjeseci* jedan bod, *svaki mjesec* dva boda, *svaki tjedan* tri boda i *svaki dan* četiri boda. Zbroj bodova triju čestica razina je rizika od oštećenja sluha bukom. Razina 0 – 4 označava *nizak* rizik, a razina 5 – 20 *visoki* rizik.

## Prilog 2. Ljestvica doživljenog stresa (engl. *Perceived Stress Scale, PSS-10*)

Upitnik sadrži deset čestica s pitanjima o Vašoj izloženosti mislima i osjećajima povezanima sa stresom tijekom prethodnih mjesec dana. Molimo Vas da odgovorite na pitanja odabirom jednog ponuđenog odgovora (0 – 4).

<i>nikada (0), gotovo nikada (1), ponekad (2), poprilično često (3), vrlo često (4)</i>						
1.	U posljednjih mjesec dana, koliko si se često uzrujao/la zbog nečeg što se neočekivano dogodilo?	0	1	2	3	4
2.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često imao/la osjećaj da nemaš kontrolu nad važnim stvarima u svome životu?	0	1	2	3	4
3.	U posljednjih mjesec dana, koliko si se često osjećao/la nervozno i pod stresom?	0	1	2	3	4
4.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često imao/la osjećaj da se možeš nositi s osobnim problemima?	0	1	2	3	4
5.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često imao/la osjećaj da se stvari odigravaju u tvoju korist?	0	1	2	3	4
6.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često imao/la osjećaj da se ne možeš nositi sa svim obavezama?	0	1	2	3	4
7.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često uspio/la kontrolirati neugodne i uznemirujuće situacije u svome životu?	0	1	2	3	4
8.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često imao/la osjećaj da imaš sve u svojim rukama?	0	1	2	3	4
9.	U posljednjih mjesec dana, koliko si se često naljutio/la zbog događaja koji su izvan tvoje kontrole?	0	1	2	3	4
10.	U posljednjih mjesec dana, koliko si često imao/la osjećaj da se teškoće gomilaju do mjere da ih je nemoguće prevladati?	0	1	2	3	4

### Upute za bodovanje

Brojka uz odgovor označava broj bodova u čestici, izuzevši četvrtu, petu, sedmu i osmu česticu, u kojima *nikada* (0) vrijedi četiri boda, *gotovo nikada* (1) tri boda, *ponekad* (2) dva boda, *poprilično često* (3) jedan bod i *vrlo često* (4) nula bodova. Razina doživljenoga stresa pojedinog sudionika odgovara zbroju bodova u svim česticama, pri čemu veći zbroj označava višu razinu.

**Prilog 3.** Upitnik *Health and Safety Executive* (engl. *HSE*) za procjenu psihosocijalnih rizika

Upitnik sadrži 35 čestica s pitanjima o Vašoj izloženosti psihosocijalnim rizičnim čimbenicima na mjestu rada tijekom prethodnih šest mjeseci. Molimo Vas da odgovorite na pitanja odabirom jednog ponuđenog odgovora (1 – 5).

<i>nikada (1), rijetko (2), ponekad (3), često (4), uvijek (5)</i>						
1.	Jasno mi je što se od mene očekuje na poslu.	1	2	3	4	5
2.	Mogu odlučiti kada ću ići na stanku za odmor.	1	2	3	4	5
3.	Različiti ljudi na poslu zahtijevaju od mene obavljanje radnih zadataka koje je teško međusobno uskladiti.	1	2	3	4	5
4.	Znam kako obavljati radne zadatke.	1	2	3	4	5
5.	Izložen/-a sam uznemiravanju u obliku nepristojnih riječi ili ponašanja.	1	2	3	4	5
6.	Imam nedostižne vremenske rokove.	1	2	3	4	5
7.	Ako posao postane težak, kolege će mi pomoći.	1	2	3	4	5
8.	Dobivam jasnu povratnu informaciju za posao koji radim.	1	2	3	4	5
9.	Moram raditi jako intenzivno.	1	2	3	4	5
10.	Mogu utjecati na brzinu rada.	1	2	3	4	5
11.	Jasne su mi moje obveze i odgovornosti.	1	2	3	4	5
12.	Moram zanemariti neke radne zadatke jer imam previše posla.	1	2	3	4	5
13.	Jasni su mi ciljevi i svrha mog odjela (radne jedinice).	1	2	3	4	5
14.	Postoji napetost ili nesloga među kolegama.	1	2	3	4	5
15.	Mogu odlučiti o načinu na koji ću obavljati svoj posao.	1	2	3	4	5
16.	Nemam dovoljno stanki za odmor.	1	2	3	4	5
17.	Razumijem kako se moj rad uklapa u sveukupni cilj radne organizacije.	1	2	3	4	5
18.	Primoran/-a sam raditi prekovremeno.	1	2	3	4	5

19.	Mogu odlučivati o svojim radnim zadacima.	1	2	3	4	5
20.	Moram raditi jako brzo.	1	2	3	4	5
21.	Izložen/-a sam maltretiranju na poslu.	1	2	3	4	5
22.	Imam nerealne vremenske rokove.	1	2	3	4	5
23.	Mogu se osloniti na svog neposrednog nadređenog da će mi pomoći s problemom vezanim uz posao.	1	2	3	4	5
<b><i>izrazito se ne slažem (1), ne slažem se (2), niti se slažem niti ne slažem (3), slažem se (4), izrazito se slažem (5)</i></b>						
24.	Dobivam potrebnu pomoć i podršku od kolega.	1	2	3	4	5
25.	Mogu donekle utjecati na način na koji obavljam svoj posao.	1	2	3	4	5
26.	Imam dovoljno prilika pitati nadređene o promjenama na poslu.	1	2	3	4	5
27.	Dobivam poštovanje koje zaslužujem od svojih kolega.	1	2	3	4	5
28.	Zaposlenike se uvijek pita za mišljenje o promjenama u poslu.	1	2	3	4	5
29.	Mogu razgovarati sa svojim neposredno nadređenim o nečemu što me uzrujalo ili naljutilo u vezi posla.	1	2	3	4	5
30.	Moje radno vrijeme je fleksibilno.	1	2	3	4	5
31.	Moji kolege voljni su slušati o mojim problemima vezanima uz posao.	1	2	3	4	5
32.	Kada dođe do promjena u poslu, jasno mi je kako će one funkcionirati u praksi.	1	2	3	4	5
33.	Dobivam podršku u slučaju emocionalno zahtjevnog posla.	1	2	3	4	5
34.	Odnosi na poslu su napeti.	1	2	3	4	5
35.	Dobivam ohrabrenje na poslu od neposredno nadređenog.	1	2	3	4	5

### Upute za bodovanje

Pitanja su višestrukim izborom odgovora. U prva 23 pitanja, ponuđeni odgovori su: *nikada* (1), *rijetko* (2), *ponekad* (3), *često* (4), *uvijek* (5). U preostalim 12 pitanja, ponuđeni odgovori su: *izrazito se ne slažem* (1), *ne slažem se* (2), *niti se slažem niti ne slažem* (3), *slažem se* (4), *izrazito se slažem* (5). Brojka uz odgovor označava broj bodova u čestici, izuzevši čestice 1, 2, 4, 7, 8, 10, 11, 13, 15, 17, 19, 23 – 33 i 35, u kojima *nikada* ili *izrazito se ne slažem* (1)



vrijedi pet bodova, *rijetko* ili *ne slažem se* (2) četiri boda, *ponekad* ili *niti se slažem niti ne slažem* (3) tri boda, *često* ili *slažem se* (4) tri boda i *uvijek* ili *izrazito se slažem* (5) jedan bod. Vjerojatnost izloženosti pojedinom psihosocijalnom rizičnom čimbeniku odgovara zbroju broja bodova u česticama koje su vezane uz pojedini rizični čimbenik podijeljenim s brojem čestica u istoj domeni.

#### Domene psihosocijalnih rizičnih čimbenika

- problematični odnosi: čestice 5, 14, 21, 34
- visoki radni zahtjevi: čestice 3, 6, 9, 12, 16, 18, 20, 22
- neupućenost u promjene u radu: čestice 26, 28, 32
- nejasnoća radne uloge: čestice 1, 4, 11, 13, 17
- nedostatak podrške suradnika: čestice 7, 24, 27, 31
- nedostatak podrške upravitelja: čestice 8, 23, 29, 33, 35
- nedostatak kontrole: čestice 2, 10, 15, 19, 25, 30

Vjerojatnost je *mala* ako je 1,0 – 2,9. Sudionici s vjerojatnošću 3,0 – 3,9 *vjerojatno* su izloženi razmatranim čimbenicima, dok su sudionici s vjerojatnošću 4,0 – 5,0 *vrlo vjerojatno* izloženi.