

**Katedra i Klinika Dermatologii Wenerologii i Alergologii
Akademii Medycznej w Gdańsku**

Kierownik Kliniki:

Prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

Promotor:

Prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

MAGDALENA TRZECIAK

**Stężenie interleukiny 18 (IL-18)
w surowicy krwi chorych na atopowe zapalenie skóry
w korelacji z poziomem immunoglobuliny E (IgE)
i ciężkością przebiegu choroby.**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

GDAŃSK 2009

Mojemu Promotorowi

Pani Profesor Jadwidze Roszkiewicz

za nieocenioną pomoc i wyrozumiałość

przy powstawaniu niniejszej pracy

BARDZO DZIĘKUJĘ

autorka

SPIS TREŚCI

1. Wykaz niektórych terminów i skrótów zawartych w tekście.....	4
2. WSTĘP.....	6
2.1. Historia.....	6
2.2. Nomenklatura atopowego zapalenia skóry.....	8
2.3. Epidemiologia atopowego zapalenia skóry.....	9
2.4. Patogeneza atopowego zapalenia skóry.....	10
2.4.1. Genetyka.....	11
2.4.2. Immunologia.....	13
2.4.2.1. Interleukina 18.....	21
2.4.3. Środowisko.....	31
2.4.4. Czynniki psychiczne.....	34
2.4.5. Bariera skórna.....	35
2.5. Obraz kliniczny atopowego zapalenia skóry.....	37
2.6. Obraz histologiczny atopowego zapalenia skóry.....	41
2.7. Różnicowanie.....	41
2.8. Leczenie atopowego zapalenia skóry.....	42
3. CELE I ZAŁOŻENIA PRACY.....	44
4. MATERIAŁ I METODYKA.....	46

5. WYNIKI.....	55
6. DYSKUSJA.....	90
7. PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI.....	105
8. STRESZCZENIE	
8.1. Streszczenie po polsku.....	107
8.2. Streszczenie po angielsku.....	112
9. PIŚMIENNICTWO.....	116

1. WYKAZ NIEKTÓRYCH TERMINÓW I SKRÓTÓW ZAWARTYCH W TEKŚCIE

AZS - atopowe zapalenie skóry.

iAD (*intrinsic atopic dermatitis*) - wewnątrzpochodne atopowe zapalenie skóry.

eAD (*extrinsic atopic dermatitis*) - zewnątrzpochodne atopowe zapalenie skóry.

SCORAD (*Severity Score of Atopic Dermatitis*) - skala służąca do oceny ciężkości przebiegu AZS.

MHC (*major histocompatibility complex*) - główny układ zgodności tkankowej obejmujący wiele genów odznaczających się największym wśród poznanych polimorfizmem o podstawowym znaczeniu w inicjacji i w fazie efektorowej odpowiedzi immunologicznej.

IL-18 - interleukina 18.

IgE - immunoglobulina E.

TNF (*tumor necrosis factor*) - czynnik martwicy nowotworów, cytokina układu Th1.

INF γ - interferon gamma- cytokina układu Th1.

LC- komórki Langerhansa.

IDEC (*inflammatory dendritic epidermal cell*) - zapalne komórki dendrytyczne naskórka.

Fc ϵ R1 - receptor wysokiego powinowactwa dla immunoglobuliny E.

LCFc ϵ R1 - komórki Langerhansa posiadające receptor wysokiego powinowactwa dla immunoglobuliny E.

NGF (*nerve growth factor*) - nerwowy czynnik wzrostu.

VCAM- 1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) - obecna na komórkach śródbłonna cząsteczka adhezji komórkowej naczyń.

GM-CSF (*granulocyte macrophage- colony stimulating factor*) - czynnik stymulujący kolonie granulocytów i makrofagów.

S.a. (*Staphylococcus aureus*) - gronkowiec złocisty.

TLR (*toll like receptor*) - główny receptor dla rozpoznania endotoksyny bakteryjnej.

IRAK (*IL-1 receptor- activating kinase*) - kinazy które w szlaku sygnałowym komórki odpowiadają za pobudzenie kolejnych białek.

TRAF 6 (*TNF-R associated factor 6*) - białko zaangażowane w przekazywanie sygnału w komórce prowadzące do inicjacji transkrypcji poprzez NFκB.

MAP (*mitogen activated protein kinases*) - kinazy białkowe aktywowane przez mitogen stanowią ogniwo szlaku sygnałowego w komórce.

JAK (*Janus kinase*) - kinazy tyrozynowe, które są fragmentem drogi przewodzenia sygnału w komórce.

STAT (*signal transducer and transcription activator*) - układ białek błonowych odpowiedzialny za przesłanie sygnału, aktywację i tempo transkrypcji w jądrze komórkowym.

NFκB (*nuclear factor κB*) - jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B- białko regulujące tempo transkrypcji.

Allel - alternatywne formy genu w tym samym miejscu na chromosomie, determinujące jedną cechę.

2. WSTĘP

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą zapalną chorobą skóry, której towarzyszy silny świąd, a typowe zmiany skórne lokalizują się w charakterystycznych miejscach, w zależności od wieku pacjenta. Patogeneza choroby jest złożona. Obejmuje ona liczne nieprawidłowości w obrębie układu immunologicznego polegające na zaburzeniu równowagi odpowiedzi komórkowej Th1 i Th2, nadmiernej produkcji immunoglobuliny E (IgE) oraz nadreaktywności mastocytów. Jednocześnie, w patogenezę AZS zaangażowane są czynniki genetyczne, środowiskowe, psychiczne oraz dysfunkcja bariery skórnej, która współcześnie uważana jest za strategiczny punkt dla rozwoju AZS.

W ostatnich dekadach wiele wysiłku włożono w wyjaśnienie patogenyzy AZS. Dotychczasowe osiągnięcia pozwalają na lepsze zrozumienie patofizjologii, precyzyjne definicje i skuteczniejsze leczenie tej choroby. Nadal jednak wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi i choć wydaje się, że zbliżamy się do poznania istoty schorzenia, pozostaje ona w dalszym ciągu enigmatyczna.

Praca poniższa będzie poświęcona badaniom zaburzeń immunologiczno- genetycznych wpływających na rozwój AZS z uwzględnieniem plejotropowej roli interleukiny 18.

2.1. HISTORIA

Alergie towarzyszą człowiekowi najprawdopodobniej od początku jego istnienia. Już w 2698 r. p.n.e Huang Ti opisał w Chinach tzw. „głośny oddech”, który był objawem astmy (1,2). Najstarszym zapisem reakcji uczuleniowej jest opis śmierci faraona Menesa w 1641 r. p.n.e, który zmarł w skutek wstrząsu anafilaktycznego po ukąszeniu przez szerszenia (2,3). Galen (129- 199r.) opisał przypadki nietolerancji mleka koziego (1-3). Pojęcie gorączki siennej wprowadził John Bostock, który w roku

1819 na posiedzeniu Królewskiego Londyńskiego Towarzystwa Medycznego, przedstawił własną okresową dolegliwość (1,2). W 1873 roku Charles Blackley z Manchesteru, ojciec współczesnej alergologii, twórca pyłkowej teorii alergicznego nieżytu nosa, wykazał zależność między liczbą ziarenek pyłku osadzających się na szkiełku podstawowym, a występowaniem objawów alergicznych (1-3). W roku 1901 Charles Richet i Paul Portier wprowadzili termin anafilaksji do określenia ciężkiej reakcji alergicznej. Chcieli oni uodpornić psa na truciznę meduzy z Morza Śródziemnego podając ją stopniowo w zwiększanych dawkach. Nieoczekiwanie dla badaczy doprowadziło to do nagłej śmierci psa przy drugim podaniu trucizny po dwutygodniowym odstępie czasu (1). W roku 1905 roku Austriak, Clemens von Piruet i Węgier, Bela Shick zaproponowali termin „alergia” na określenie zmienionej reaktywności (allos- różne i ergos- praca, działanie) (2). W 1911 roku Leonard Noon i John Freeman opisali zjawisko skutecznego leczenia alergii pyłkowej poprzez wywołanie czynnego uodpornienia podskórnie wstrzykiwanym pyłkiem trawy tymotki, co stało się podstawą rozwoju immunoterapii swoistej. W 1912 roku Oskar Schloss wprowadził do praktyki skórny test skaryfikacyjny, a w 1915 roku Robert Cooke test śródskórny (2). W 1923 roku Arthur Fernandez Coca i Robert A. Cooke zaproponowali termin atopia (atopos- dziwny) dla opisanie klinicznych postaci alergii objawiających się gorączką sienną i astmą., których „jednostki należą do grupy o szczególnej zdolności do uczulania się na pewne białka, na które często są narażone w swoim środowisku i przez swój styl życia” (1,3). W 1933 roku Wise i Sulzberger wprowadzili pojęcie atopowego zapalenia skóry (4). W 1967 roku Teruko i Kimishige Ischizaka oraz S.O.G. Johansson i Hans Bennich odkryli przeciwciała klasy IgE (2,3).

W Polsce w 1945 roku Mieczysław Oblutowicz założył pierwszą Poradnię Alergologiczną (2). W 1961 roku Edward Rudzki wydał monografię pt : „Alergologia”

(1). W 1965 r. Bogdan Romański zorganizował w Gdańsku pierwsze krajowe sympozjum alergologiczne (1,2).

2.2. NOMENKLATURA

W 2001 roku, Europejska Akademia Alergologii i Immunologii Klinicznej zaproponowała termin- zespół atopowego zapalenia skóry (ZAZS)- atopie eczema(dermatitis syndrome (AEDS). Wyróżniono niealergiczny i alergiczny ZAZS. Alergiczny ZAZS podzielono następnie na związany z IgE ZAZS i IgE niezależny ZAZS (5).

W 2003 roku opublikowano stanowisko Komitetu Światowej Organizacji Alergologów, który zastrzegł określenie ‘wyprysk atopowy’ jedynie w odniesieniu do reakcji skórnych powstałych na bazie alergii IgE- zależnej, potwierdzonej występowaniem alergenospicyficznego IgE lub testami prick. (6,7).

Związaną z IgE formę AZS w piśmiennictwie określa się mianem- zewnątrzpochodnego AZS (extrinsic atopic dermatitis- eAD) i forma ta dotyczy 70-85% pacjentów. Ok. 30% chorych obejmuje grupa tzw. wewnątrzpochodnego AZS (nonatopic; intrinsic atopic dermatitis- iAD) (8-11).

Wiadomo, że 80% dorosłych pacjentów z AZS wykazuje nadwrażliwość na alergen powietrzno pochodne lub pokarmowe i ma podwyższony poziom IgE w surowicy krwi (12,13). Stąd postulowano, że być może iAd jest formą przejściową do eAD (14). Obecnie część autorów (7) uważa, że naturalna historia rozwoju AZS przebiega w trzech fazach. Faza początkowa jest nieatopową (nonatopic) formą zapalenia skóry u dzieci, kiedy to nadwrażliwość jest jeszcze niewykrywalna. Jest ona rezultatem genetycznie uwarunkowanej dysfunkcji bariery skórnej i efektów działania czynników środowiskowych. Następnie u 60-80% pacjentów czynniki genetyczne

wpływają na indukcję nadwrażliwości IgE specyficznej wobec żywności i alergenów środowiskowych i dochodzi do przekształcenia iAD w eAZS. Ten proces jest nasilany przez działanie enterotoksyn gronkowca złocistego. W trzeciej fazie rozwoju AZS, pod wpływem drapania dochodzi do uszkodzenia komórek, które uwalniają strukturalne proteiny- autoantygeny, co indukuje powstawanie autoprzeciwciał IgE. Obserwujemy tu zjawisko molekularnej mimikry między epitopami pochodzenia alergenowego a ludzkimi proteinami (7).

Według niektórych badaczy podział na extrinsic i intrinsic AZS ma sens tylko dla aspektów genetycznych (15).

2.3. EPIDEMIOLOGIA

W ostatnich trzech dekadach częstość występowania AZS podwoiła się, a nawet potroiła w krajach uprzemysłowionych z 15- 30% wśród dzieci i z 2-10% wśród dorosłych (7,16-19). Obserwuje się, że AZS występuje częściej wśród lepiej sytuowanych klas społecznych, rzadziej rozwija się na terenach rolniczych, w krajach Europy wschodniej, Chinach i Afryce (17). Do czynników ryzyka wystąpienia AZS zaliczono: małe rodziny, podwyższenie dochodów i rozwój edukacji, migracje ze wsi do miast, stosowanie antybiotyków (17,20). Tendencję wyżej opisaną wiąże się m.in. z tzw. „hipotezą higieny”, która głosi, że ograniczenie kontaktu z antygenami infekcyjnymi (w tym też coraz szerzej zakrojona prewencja systemu szczepień) we wczesnym dzieciństwie zwiększa ryzyko rozwoju chorób alergicznych (7,16,21-23). Teoretycznie może to wynikać z faktu, że w rozwoju chorób alergicznych bierze udział odpowiedź immunologiczna typu Th2. W warunkach prawidłowych, fizjologicznie jej nadmierna ekspresja jest balansowana przez układ Th1. W sytuacji kiedy we wczesnym dzieciństwie ograniczony jest kontakt z infekcjami, które stymulują układ Th1, brak jest

antagonistycznego działania tego układu wobec układu Th2 i ten ostatni zaczyna przeważać (17,24). Tak więc styl życia i czynniki środowiskowe mają zasadnicze znaczenie w ekspresji AZS.

45% przypadków AZS rozwija do około 6 miesiąca życia, 60% rozpoczyna się w trakcie 1 roku życia, a 85% do 5 roku życia (7,25). Ponad 50% dzieci, które rozwijają AZS w ciągu 2 pierwszych lat życia, nie ma żadnych oznak nadwrażliwości specyficznej IgE. Ok. 70% dzieci ma samoistne remisje choroby przed okresem dojrzewania (7). 80% dzieci z AZS ma alergiczny nieżyt nosa lub astmę (17). Z kolei dzieci z AZS, u których testy prick w początkowym okresie trwania choroby są ujemne, mają mniejsze ryzyko rozwoju astmy w przyszłości (9,14). Tylko u 14% z nich występuje astma. Dla porównania tzw. wcześni atopicy, u których występowały objawy AZS i testy prick były pozytywne w wieku 2 lat, aż w 60% przypadków rozwijają astmę oskrzelową. U ponad połowy dzieci z AZS początkowo ujemne wyniki testów prick z czasem pozytywizują. Niestety, dzieci z AZS i z ujemnymi testami prick w wieku 2 i 11 lat stanowią najmniejszą grupę; z obserwacji wynika, że nie obserwuje się u nich marszu alergicznego i rozwoju astmy oskrzelowej (14).

2.4. PATOGENEZA

Patogeneza AZS jest złożona. Składają się na nią zaburzenia immunologiczne, genetyczne, dysfunkcje bariery skórnej oraz czynniki środowiskowe i uwarunkowania psychiczne. Po wielu latach żmudnych badań nad patogenezą AZS wysunięto hipotezy, które próbują wytłumaczyć istotę choroby. Pierwsza z nich utrzymuje, że pierwotny defekt dotyczy układu immunologicznego. W konsekwencji prowadzi to do nadwrażliwości IgE zależnej z wtórną dysfunkcją bariery skórnej, będącą efektem miejscowego zapalenia. Druga teoria sugeruje, że wewnątrzpochodny defekt komórek

naskórka prowadzi do dysfunkcji bariery skórnej, a wtórnie dochodzi do zaburzeń immunologicznych; aspekt immunologiczny jest traktowany jako epifenomen(7,10,26). Wielu autorów postuluje tzw. outside- inside- outside model patogenezy AZS (10,26). Reasumując, zapalenie skóry w AZS jest wynikiem genetycznych i nabytych zaburzeń modyfikujących strukturę i funkcję naskórka, co w konsekwencji sprzyja aktywacji układu immunologicznego, który wtórnie działa negatywnie na homeostazę bariery skórnej (7,10,26,27).

2.4.1. Genetyka

Już w 1985 Schultz i współpracownicy wykazali, że częstość występowanie AZS u bliźniaków monozygotycznych jest wyższa (77%) niż u bliźniaków dwuzygotycznych (15%) (28). Podobnie, w 1993 Larsen uzyskał wyniki statystycznie znamienne wyższe dla występowania AZS w grupie bliźniąt monozygotycznych (29). Ponadto wykazano, że alergiczny nieżyt nosa i astma u rodziców jest mniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju AZS u dzieci niż występowanie u rodziców AZS (17,30), co także dowodzi istnienia specyficznych genów dla AZS.

Badania dotyczące poszukiwania genu odpowiedzialnego za występowanie atopii prowadzone są w wielu ośrodkach badawczych na całym świecie.

Wykazano, że różnorodne geny, które na chromosomie 5q31-33 kodują cytokiny związane z regulacją syntezy IgE czyli IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 i GM-CSF wykazywały związek z występowaniem AZS (30,31-33). Również gen kodujący IL-18 (11q22.2-22.3) postulowany był jako gen kandydat dla AZS (7,34,35), podobnie jak region 21q na chromosom 3, kodujący kostymulujące molekuly CD80 i CD 86. (33).

Szeroko dyskutowany był związek innej mutacji w kolejnym genie chromosomu 11 (11q13) kodujący łańcuch β receptora wysokiego powinowactwa dla IgE- Fc ϵ RI (36).

Za „chromosomowy marker” alergii uznawano region 12q14.3-q24.1, który mieści gen dla INF γ oraz gen dla białka STAT 6 (Signal transducer and transcription activator 6)- wewnątrzkomórkowego białka przewodzącego sygnał krytyczny dla rozwoju limfocytów Th2 (37).

Ponadto, u pacjentów z AZS identyfikowano mutacje dotyczące funkcji promotora chemokin RANTES (regulated activation, normal T-cell expression and secreted) w miejscu 17q11 i polimorfizm w podjednostce α receptora IL4 (16q12) (38).

Polimorfizm w obrębie Toll like receptor (TLR2 R753Q) wiązano z ciężkim fenotypem AZS (39). Toll like receptor to główny receptor dla rozpoznania endotoksyny bakteryjnej.

W 2004 roku Cookson (40) badał chromosom 1q21, który kryje rodzinę genów związanych z różnicowaniem naskórka, zwanych kompleksem różnicowania naskórka. (epidermal differentiation complex). W innej pracy ten sam autor (41) donosił, że AZS i łuszczyca są związane z loci na chromosomie 1q21 i 17q25. Większość regionów genetycznych związanych z AZS koresponduje z loci związanymi z łuszczycą choć choroby te rzadko współistnieją (7).

W ostatnich latach postuluje się, że z rozwojem AZS związany wydaje się być gen kodujący filagrynę, który znajduje się właśnie na chromosomie 1q21.3. Dotychczas została zbadana mutacja w tym genie i utrata jego funkcji u chorych na AZS w populacji europejskiej i japońskiej. Dowiedziono, że mutacja filagryny pojawia się głównie u pacjentów z wczesnym początkiem rozwoju AZS (early onset atopic dermatitis) i wskazuje na skłonność do rozwoju astmy. Nie ma związku między mutacją

w genie filagryny, a występowaniem chorób alergicznych układu oddechowego bez współistnienia AZS. Mutacja w genie filagryny występuje u 30% europejskich topików (42-46).

Zdaniem niektórych badaczy (47,48), dla rozwoju AZS mogą być istotne także inne mutacje w genach kodujących struktury naskórka jak np. enzym warstwy rogowej lub kolagen.

Badania mikrosatelitarnymi markerami w próbkach wyizolowanego DNA zakończyły się sukcesem w zidentyfikowaniu genu kandydata odpowiedzialnego za ziarniniaka Wegenera (49) i za narkolepsję (50). W AZS przebadano geny wrodzonego układu odpornościowego, geny cytokin, chemokin, i sygnałów transdukcyjnych razem-9154 genów u 150 pacjentów. Ustalono wstępnie, że polimorfizmy w genie lub okolicy genu kodującego receptor dla chemokiny CCR4 (3p23), który znajduje się na komórkach Th2, eozynofilach i bazoofilach oraz gen czynnika jądrowego NFkB1 (4q23-q24) mogą mieć znaczenie w rozwoju na AZS (51).

Do tej pory, w metodzie pozycyjnego klonowania, żaden gen odpowiedzialny za AZS nie został zidentyfikowany, lecz badania nad genem atopii nie ustają.

Wydaje się słuszna sugestia Biebera i wsp. (7), że genetyka w AZS rozpatrywana powinna być w kontekście 2 dużych grup genów: kodujących strukturalne białka naskórka i główne elementy układu immunologicznego.

2.4.2. Immunologia

AZS charakteryzuje się licznymi nieprawidłowościami w obrębie układu immunologicznego. Obserwujemy zaburzeniu równowagi odpowiedzi Th1 i Th2 komórkowej, nadmierną produkcję immunoglobuliny E (IgE), zaburzenia w przekazywaniu sygnału przez komórki dendrytyczne oraz nadreaktywność mastocytów

(27). W rozwoju zapalnej reakcji alergicznej kluczową rolę odgrywają limfocyty T, mastocyty i bazofile (52).

Limfocyty T z grasicy wędrują do węzłów chłonnych. Tam, po prezentacji w kontekście układu MHC klasy I, różnicują się do limfocytów CD8+ cytotoksycznych z receptorem powierzchniowym $\gamma\delta$ lub po kontakcie z MHC klasy II do limfocytów CD4+ pomocniczych z receptorem powierzchniowym $\alpha\beta$. Pomocnicze limfocyty CD4+ dzielą się na limfocyty Th1 i Th2. Limfocyty Th1 produkują cytokiny prozapalne takie jak: $\text{INF}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$ i β , IL-1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-23 biorące udział w odpowiedzi typu komórkowego. Limfocyty Th2 poprzez produkowane cytokiny IL-4, IL-13, IL-5, IL-6, IL-9 i IL-10 stymulują odpowiedź humoralną. W tabeli nr 1 przedstawiono główne cytokiny zaangażowane w rozwój AZS wraz z ich funkcją.

Tabela nr 1. Główne cytokiny zaangażowane w rozwój AZS i ich funkcja

Limfocyty Th1	Limfocyty Th2
<u>$\text{INF}\gamma$</u> - hamuje syntezę IgE, proliferację układu Th2 (53,54) oraz ekspresję receptora IL-4 na komórkach T (17) - pobudza układ Th1 (10,55) - pobudza ekspresję MHC klasy I i II (major histocompatibility complex), (55) - aktywuje monocyty i makrofagi (55)	<u>IL 4</u> - pobudza limfocyty B do produkcji IgE (10,37) - odpowiada za zmianę produkowanych przez limfocyty B immunoglobulin z klasy IgG i IgM na IgE (54) - zwiększa ekspresję receptora $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ na komórkach (10) - wzmacnia wydzielanie rozpuszczalnych receptorów $\text{Fc}\epsilon\text{II}$ (37)
<u>IL-1</u> -stymuluje rozwój i dojrzewanie limfocytów Th2 (10)	- uczestniczy w regulacji zmiany fenotypu limfocytów T w kierunku Th2 (10) - hamuje odpowiedź limfocytów Th1 (57).
<u>IL-2</u> - wpływa na proliferację limfocytów T	-aktywuje monocyty i makrofagi, wzmacnia ich cytotoksyczność i fagocytozę, hamuje

głównie cytotoksycznych i różnicowanie limfocytów T w kierunku limfocytów T cytotoksycznych (37) -wpływa na aktywację i proliferację komórek NK (37) -wraz z IL-4 i IL-5 pobudza proliferację i różnicowanie limfocytów B (37) <u>IL 12</u> -stymuluje proliferację, aktywację i cytotoksyczność limfocytów T oraz komórek NK - stymuluje wytwarzanie INFγ z komórek T i NK - indukuje wytwarzanie komórek Th1 z TH0 oraz wzmacnia ich proliferację i aktywność (14,37) INFγ, IL-2 i IL-12- odgrywają ważną rolę w odpowiedzi komórkowej ustroju w przebiegu infekcji wirusowych, bakteryjnych i grzybiczych (37) <u>IL-18</u> -odgrywa rolę w rozwoju AZS niezależnie od IgE (52). -uznawana jest za cytokinę hamującą proces zapalny tzw. INFγ inducing factor (54) -pobudza cytokiny układu Th2 i Th1 (52,56)	wytwarzanie przez nie cytokin prozapalnych (37) - wraz z IL-10 hamuje wydzielanie INFγ (37) - zwiększa ekspresję vascular cell adhesion molekule (VCAM) - jest kluczową molekułą w migracji eozynofili do ogniska zapalenia (54) <u>IL-13</u> - odgrywa pomocniczą rolę dla IL-4 (58) - wpływa na indukcję odpowiedzi Th2 i pobudza rozwój cytokin Th2-zależnych (5,58) -wzmaga proliferację limfocytów B i zmianę klasy immunoglobulin w kierunku IgE (27) - działa na limfocyty B i monocyty (27) -reguluje odpowiedź przeciwpasożytniczą. (27) <u>IL-4 i IL-13</u> promują przełączenie klas IgM i IgG w kierunku IgE, indukują ekspresję VCAM-1, wzmagają infiltrację eozynofilową, hamują cytokiny Th1 (17). <u>IL-5</u> - odgrywa rolę w rozwoju, aktywacji i przeżyciu oraz degranulacji eozynofili (4,17,33,37,54) - zwiększa uwalnianie histaminy z bazofili (55)
--	--

	<u>IL-10</u> - hamuje odpowiedź typu komórkowego (4,10,37) -hamuje powstawanie limfocytów Th1 pobudzonych przez antygen, - hamuje aktywność INF γ i IL-2, -zmniejsza zdolność monocytów do prezentacji antygenów (37) - wpływa na migrację eozynofili (59) Drapanie skóry wpływa na zwiększenie ekspresji mRNA dla IL-10 (59)
--	---

Dotychczas uważano, że komórki Th1 zaangażowane są w patogenezę chorób autoimmunologicznych, zaś Th2 atopowych (60). W różnicowaniu komórek T w kierunku układu Th1 bierze udział proteinowy układ transdukcyjny STAT4 (signal transducer and transcription activator) i T-bet, natomiast w kierunku Th2 impuls biegnie przez układ STAT6 i GATA3 (czynniki transkrypcyjne dojrzewania limfocytów T) (37,61).

Najnowsze badania nad patogenezą AZS podkreślają rolę limfocytów Th17. Powstają one z limfocytów T0 pod wpływem IL-23 i produkują IL-17, IL-20, IL-22. Działając przez układ białek błonowych STAT 1,2,4, limfocyty Th17 odgrywają rolę w procesach autoimmunologicznych, ale również biorą udział w rozwoju łuszczycy i AZS (62-64).

W zależności od charakteru zmian wypryskowych w AZS obserwujemy dominację limfocytów Th2 lub Th1.

W fazie ostrych zmian w skórze występuje obfity naciek limfocytarny oraz stwierdza się wzmożone wytwarzanie IL- 4, IL- 5 i IL-13, co sugeruje akumulację limfocytów Th2 (17,65,66). W nacieku obecne są również komórki wiążące na swej

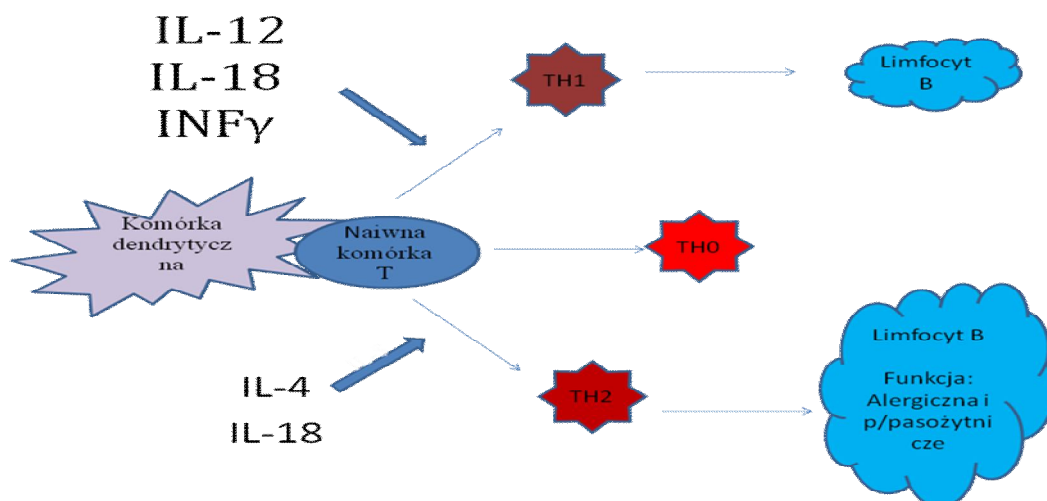
powierzchni molekuly IgE, czyli komórki prezentujące antygen, do których należą komórki Langerhansa, makrofagi i naskórkowe komórki dendrytyczne IDEC (inflammatory dendritic epidermal cell) (17,65,66). W tym okresie stwierdzono również zwiększoną ekspresję mRNA dla IL-4, IL-5 i IL-13 (17,67-71). Ponadto opisywano zwiększoną ekspresję IL-16, która jest czynnikiem chemotaktycznym dla limfocytów T CD4+ (67). Nie dziwi zatem, opisywana także przez innych autorów (66), infiltracja aktywnych komórek CD4+ widoczna w ostrym okresie zmian skórnych w AZS. W ostrej fazie AZS wykazano również zwiększoną ilość IL-17 (68). Zgodnie z ostatnimi doniesieniami pośrednio dowodzi to roli tej interleukiny oraz wytwarzających ją komórek Th17 w patogenezie AZS (62).

W fazie przewlekłej AZS, w skórze dominuje naciek z eozynofili i makrofagów. Zwiększona jest synteza cytokin Th1 zależnych: IL-2, IL-12 i INF γ (55,72). Opisywano również zwiększoną ekspresję mRNA dla IL-5, IL-12, INF γ oraz IL-11 (68,70,73-76). Mniejsza jest natomiast ilość IgE na komórkach prezentujących antygen (4,17,66).

Interpretując badania skórnych testów płatkowych z roztoczem kurzu domowego postulowano, że IL-12, wydzielana z eozynofili i makrofagów zgromadzonych w miejscu zapalenia, prawdopodobnie po 24-48 godzinach przełącza układ Th2 komórkowy z dominującą IL-4 na układ Th1 komórkowy z dominacją INF γ (9,17,54,55,72,74,77-79). Niektórzy autorzy uważają, że głównym przełącznikiem układu Th2 na Th1 jest INF γ (37,80,81). Inni z kolei postulują, że komórki dendrytyczne- IDEC Fc ϵ RI+, które występują tylko w zapalnie zmienionej skórze u pacjentów z AZS (7,65) mogą być istotnie zaangażowane w przełączenie układu Th2 na Th1 poprzez produkcję IL-12 i IL-18 oraz uwolnienie prozapalnych cytokin (82).

Różnicowanie komórek naiwnych T w kierunku układu komórek Th1 i Th2 przedstawia rycina nr 1.

Rycina nr 1. Różnicowanie komórek w kierunku Th1 i Th2 (wg 7,37).



Próby wyjaśnienia przyczyn zaburzenia równowagi między układem Th1 i Th2, która zachodzi w AZS opierały się o badania genetyczne i korelacje immunologiczne; postulowano też, że zaburzenia te mogą być wynikiem nieprawidłowej apoptozy komórek. Hipoteza ta tłumaczona jest nadmiernym niszczeniem jednej subpopulacji limfocytów i dominacją drugiej (83,84). Zaobserwowano paradoksalnie większą odporność komórek Th2 na zaprogramowaną śmierć komórek, niż komórek Th1. U pacjentów z AZS populacja zaktywowanych limfocytów efektorowych pamięci Th1 o fenotypie CLA+CD45RO+T (cell- circulating cutaneous lymphocyte- associated antygen bearing) posiadająca wysokie poziomy ligandów Fas podlega aktywacji indukującej śmierć komórki, co w rezultacie przenosi odpowiedź immunologiczną w kierunku przeżycia układu Th2 (84). Sugerowano też, że peptydoglikan gronkowca złocistego może wpływać na dominację układu Th2 u pacjentów z AZS poprzez produkcję IL-4 z limfocytów T CD4+, zależnie od IL-18 (85). Na polaryzację w

kierunku układu Th2 mogą też oddziaływać czynniki produkowane przez keratynocyty pacjentów z AZS (86). U osób z AZS dominacja układu Th2 wpływa na dojrzewanie limfocytów B i genomową rearnżację tych komórek, która faworyzuje przełączanie klas z IgM na IgE (7).

W procesie chorobowym biorą także udział komórki tuczne. Przeciwciała klasy IgE opłaszczają się na komórkach tucznych, które posiadają receptor wysokiego powinowactwa (FcεRI), za pomocą którego wychwytyją alergen. Po przyłączeniu alergenu, dochodzi do degranulacji komórki tucznej i uwolnienia z niej histaminy, leukotrienów i interleukin, co prowadzi do ostrego stanu zapalnego i prowokacji świądu. Po 3-4 godzinach od reakcji natychmiastowej rozwija się późna faza reakcji zapalnej zależna od IgE wiązanego przez receptor FcεRI na komórkach Langerhansa (LC). Specyficzne IgE opłaszczone na komórkach Langerhansa wiąże alergen i prezentuje go limfocytom Th2 (4). Ponadto same komórki Langerhansa produkują IL-16, która rekrutuje limfocyty CD4⁺ oraz niektóre chemokiny (7,82). Dodatkowo połączenie alergenu z receptorem wysokiego powinowactwa FcεRI na bazofilach i mastocytach aktywuje te komórki do produkcji interleukin układu Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) oraz mediatorów chemicznych (52). Komórki prezentujące antygen typu LC FcεRI biorą udział w początkowej fazie zapalenia (82).

W konsekwencji wyżej opisanych zaburzeń w układzie immunologicznym pacjentów z AZS u większości z nich wykrywamy eozynofilię, podwyższony poziom IgE w surowicy krwi, zwiększoną ekspresję cytokin typu Th2 i zmniejszoną ekspresję INFγ oraz innych cytokin wytwarzanych przez Th1 (17,66,87-92). Obniżony poziom INFγ w AZS, przy prawidłowej liczbie komórek, które go produkują świadczy o zaburzeniu w syntezie tej cytokiny (10,93).

Na marginesie, u zwierząt doświadczalnych pozbawionych komórek T nie rozwija się AZS (17,94).

Skomplikowane zjawiska immunologiczne w AZS i ich niewątpliwy udział w patogenezie tego schorzenia skłaniają do szczegółowych poszukiwań i intensywnych badań, wśród których wiele miejsca poświęca się IL-18, szczególnie w ostatnich latach, kiedy to została odkryta jej dwoista natura.

2.4.2.1. INTERLEUKINA 18

Interleukina 18 (IL-18) była zidentyfikowana w 1989 roku jako czynnik indukujący $\text{INF}\gamma$. Wykryto ją w surowicy krwi u myszy, której wcześniej wstrzyknięto endotoxinę *Propionibacterium acne* (95-97). W 1995 roku IL-18 została sklonowana oraz rozpoznana jako pojedynczy łańcuch peptydowy o wadze molekularnej 18000 i nazwana IL-18 (97,98). Wraz z 11 innymi cytokinami należy ona do rodziny IL-1 (15,37,97,99,100). W piśmiennictwie spotykamy różne nazwy dla IL-18: IGIF ($\text{INF}\gamma$ inducing factor), IL-1 γ , IL-1F4 (37).

IL-18 jest syntetyzowana jako nieaktywny prekursor- polipeptyd o masie cząsteczkowej 24 kDa (pro- IL-18) (15,100,101), a następnie cięta jest przez wewnątrzkomórkową proteazę cysteinową- caspazę 1 (IL-1 β -enzym konwertujący) do formy aktywnej IL-18 o masie cząsteczkowej 18 kDa (15,37,99,100,102,103). Caspaza 1 powstaje z procaspazy pod wpływem proteazy serynowej (104).

IL-18 jest produkowana przez monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne, nabłonkowe i osteoblasty (12,37,102,103,105-108). Keratynocyty postrzegane są jako największa fabryka IL-18 (109). Cytokina ta może być wytwarzana przez komórki endokrynne (110,111), ependymalne i mikroglej (258). Jest odnajdywana w przysadce i nadnerczach (258). Wydaje się, że uwalniają ją komórki ulegające apoptozie (37,105). Niektórzy autorzy uważają, że komórki dendrytyczne i makrofagi są źródłem aktywnej IL-18, natomiast jej prekursor pochodzi z komórek nabłonkowych (168).

Receptor dla IL-18 znajduje się na następujących komórkach:

- limfocytach T (97,110,112,114)
- komórkach dendrytycznych (97,114)
- komórkach tucznych (113)
- bazofilach (113)

- makrofagach (114,115)
- neutrofilach (115)
- komórkach NK (97,114,115)
- komórkach śródbłónka (115)
- komórkach mięśni gładkich (115)

Jest on heterodimerem zbudowanym z 2 podjednostek: α i β . Podjednostka α - IL-18R α wcześniej identyfikowana była jako IL-1 receptor related protein, zwana też IL-1R5. Podjednostka β - IL-18R β zwana była IL-1R7 (12,95). Łańcuch α receptora IL-18 odpowiedzialny jest za zewnątrzkomórkowe wiązanie IL-18, zaś łańcuch β za transdukcję sygnału. Oba łańcuchy są niezbędne do prawidłowej sygnalizacji (12,37,103,116-118). Ponadto IL-18 posiada dodatkowy receptor/inhibitor- białko wiążące IL-18 (IL-18 BP) (95,105). Został on odkryty w 1999 roku i jest specyficznym inhibitorem wysokiego powinowactwa (119,120). Aktualnie jest wykorzystywany w badaniach klinicznych w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) i ciężkiej postaci łuszczycy (97). Budowę receptora IL-18 oraz przewodzenie sygnału obrazuje rycina nr 2.

Rycina nr 2. Budowa receptora IL-18 oraz schemat transdukcji sygnału. (wg 37,95).

RECEPTOR IL-18

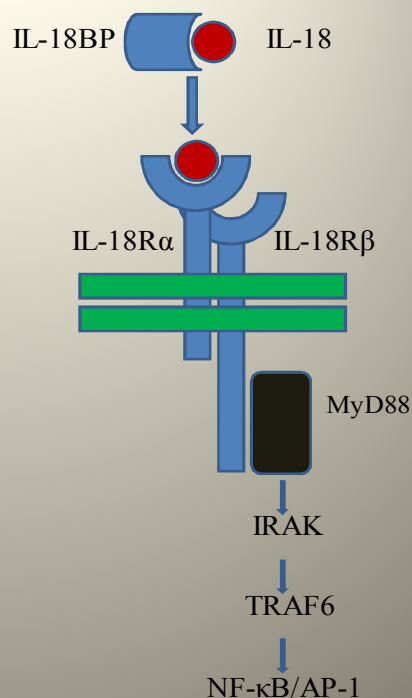
•Heterodimer:

-podjednostka IL-18R α (wcześniej IL-1 receptor related protein, zwana też IL-1R5) - odpowiedzialny jest za zewnątrzkomórkowe wiązanie IL-18

-podjednostka IL-18R β (zwana IL-1R7)- odpowiada za transdukcję sygnału.

Oba łańcuchy są niezbędne do prawidłowej sygnalizacji.

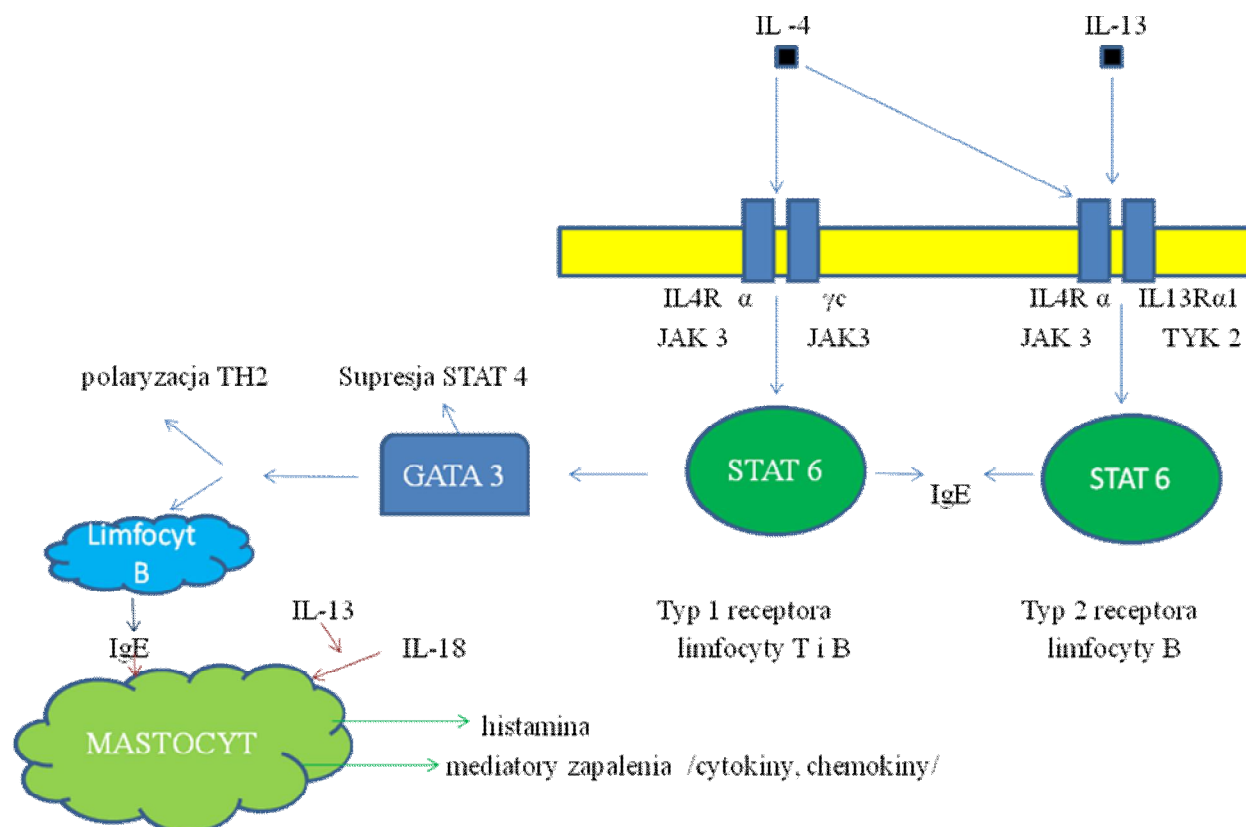
• IL18BP- rozpuszczalny receptor/inhibitor



Związanie IL-18 z podjednostką α receptora prowadzi do aktywacji łańcucha β i domeny Toll w cytoplazmatycznym fragmencie łańcucha. Wewnątrzkomórkowy fragment łańcucha β zawiera domenę Toll, która jest niezbędna do zainicjowania transdukcji sygnału. Domena Toll łączy IL-18 z receptorem Toll- like, który rozpoznaje także antygeny mikroorganizmów. Wewnątrzkomórkowa proteina MyD88, która zawiera się w szlaku transdukcyjnym TLR (Toll-like receptor) zostaje pobudzona i prowadzi do fosforylacji kinazy białkowej IRAK (IL-1 receptor- associated kinase), które aktywują białko TRAF 6 (TNF-R associated factor 6). Następnie przez system kinaz białkowych aktywowanych przez mitogen (MAP- mitogen activated protein kinases), których końcowymi elementami kaskad są m.in c-Jun N-terminal kinazy (JNK), dochodzi ostatecznie do pobudzenia czynników transkrypcyjnych: aktywatora proteiny 1 (AP-1) i czynnika jądrowego κ B (NF κ B) (95,97,103,105,121-124). W efekcie tego pobudzenia dochodzi do wzrost transkrypcji IL-4 i IL-13 i innych

efektorów (81,123-130). Z kolei wzrost stężenia IL-4 i IL-13 działających poprzez STAT 6 prowadzi do powstania zapalenie alergicznego (61,105,131). Ryc. nr 3.

Rycina nr 3. Aktywacja układu STAT 6 i wpływ na produkcję IgE oraz udział w reakcji alergicznej (wg 105,131).



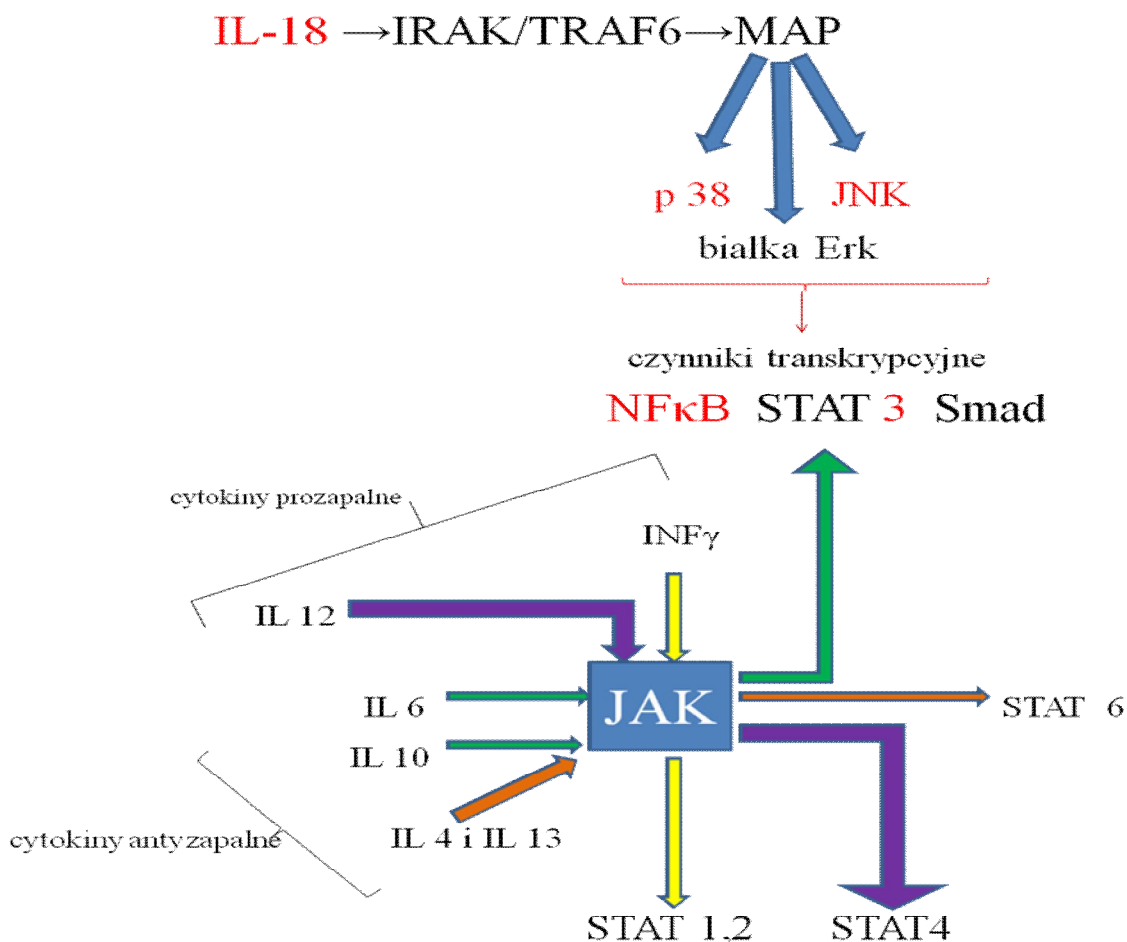
IL-18 może także indukować MAP ze szlakiem biegnącym przez kinazę p 38 (97), co aktywuje sygnałowy przekaźnik i aktywator transkrypcji STAT3 (132). Z kolei STAT3 może mediować sygnały zarówno prozapalne jak i antyalergiczne (61). (Patrz rycina nr 4).

Reasumując, IL-18 wiążąc się ze swoim receptorem działa poprzez kinazy białkowe aktywowane przez miogen (MAP), których końcowymi elementami kaskad są: białka Erk (extracellular-signal regulated kinase) 1 i 2, kinazy białkowe aktywowane przez

stres (c-Jun-N-terminal-kinazy SAPKs) JNKs 1,2 i 3, kinazy p 38 ($\alpha\beta\gamma$). Szlaki MAP prowadzą do aktywacji czynników transkrypcyjnych, do których należą: NF κ B (prozapalny), Smad i Glucocorticoid receptor (antyzapalne) i członkowie rodziny protein STAT, które są także aktywowane cytokinami. (37,133-136). Cytokiny aktywują też kinazy tyrozynowe JAK (Janus kinase): JAK1, JAK2, JAK3, TYK2, które również wchodzą w skład ścieżki sygnałowej JAK- STAT. Zatem szlaki przewodnictwa, poprzez które może działać IL-18 tłumaczą jej pro- lub antyzapalną funkcję.

Rycina nr 4. Szlaki działania IL-18 oraz innych cytokin (wg 15,37,61,131).

Na czerwono oznaczono drogę działania IL-18. Drogi działania cytokin poprzez systemy JAK/STAT oznaczono następująco: kolorem żółtym INF γ , kolorem fioletowym IL-12, kolorem zielonym IL-6 i IL-10 oraz kolorem pomarańczowym IL 4 i IL-13.



Jak wspomniano, IL-18 była uznawana za cytokinę układu Th1 jako tzw. czynnik indukujący INF γ z komórek Th1, CD8 i NK (95,98,102,106,111,113,114,137-140). W związku z tym uważano, że jej działanie hamuje syntezę IgE i wykazuje właściwości antyalergiczne. Późniejsze badania ujawniły, że wyżej opisane zdolności IL-18 posiada tylko przy synergistycznym działaniu z IL-12 (102,111,114,124,143,144). IL-12 działa poprzez system STAT4, który ma kluczowe znaczenie w patogenezie chorób autoimmunologicznych Th1 zależnych (15). Wykazano jednak, że IL-12 zdolna jest także do zwiększania ekspresji receptora IL-18 na komórkach T (102,111,114,124,145,146).

Wiadomo, że mastocyty i bazofile odgrywają kluczową rolę w zapaleniu alergicznym (113,147). Połączenie kompleksu alergenu/IgE z receptorem wysokiego powinowactwa Fc ϵ RI na bazofilach i mastocytach, aktywuje te komórki do produkcji cytokin Th2 takich jak: IL-4, IL-13, IL-5 oraz mediatorów chemicznych (52). IL-4 i IL-13 aktywują drogę wiodącą przez system STAT 6, który zaangażowany jest w promocji zapaleń alergicznych (61,131). (Patrz rycina nr 3).

Przełomowe okazały się badania z ostatnich lat, na podstawie których wykazano, że IL-18 wpływa na produkcję IL-4 i IL-13 (15,37,113,120,124, 148-150) i tą drogą pobudza syntezę IgE, a w związku z tym wykazuje cechy cytokiny o właściwościach prozapalnych (124,151). Wyniki te przedstawiły IL-18 w zupełnie odmiennym świetle i uruchomiły lawinę badań nad rolą tej cytokiny i jej wpływem na rozwój chorób alergicznych. Wykazano, że w synergii z IL-2 może ona indukować produkcję IL-13 w komórkach NK i komórkach T (148). Wraz z IL-12 i IL-2 działa na limfocyty T bez receptorów i antygenów (52) i indukuje naiwne komórki T do rozwoju w kierunku komórek Th2 (113,124,149,152). Poprzez indukcję cytokin Th2 (151) przyczynia się do produkcji IgE również niezależnie od IL-4 (153). Reguluje produkcję IgE in vivo w

nieobecności alergenów (124). To właśnie IL-18, a nie IgE, odgrywa znaczącą rolę w rozwoju zapalenia skóry poprzez aktywację bazofili i mastocytów do produkcji IL13 i IL4 (52). Wykazano eksperymentalnie, że w obecności IL-3, IL-18 potrafi bezpośrednio stymulować bazofile i mastocyty do wydzielania mediatorów reakcji zapalnej takich jak: histamina, serotonina oraz IL-4 i IL-13 bez udziału IgE (52,71,113). Pod wpływem tego bezpośredniego pobudzenia, in vitro bazofile produkują IL-4 i IL-13, natomiast mastocyty tylko IL-13 (113).

Eksperymentalnie udowodniono, że IL-18 indukuje zmiany skórne typowe dla AZS niezależnie od poziomu IgE (52). Fakt, że IL-18 jest przyczynkiem do rozwoju tzw. niealergicznego AZS (intrinsic AD), charakteryzującego się brakiem antygenowo specyficznego IgE potwierdzili też inni autorzy (11,52). IL-18 indukuje atopowy fenotyp pod nieobecność specyficznych alergenów (52). Może więc odgrywać rolę w rozwoju AZS związanego z infekcją przez indukcję IL-3 (11).

IL-18 jest cytokiną plejotropową, która w zależności od środowiska cytokinowego i podłoża genetycznego pobudza układ Th1 lub Th2 i w związku z tym jej znaczenie w rozwoju AZS wydaje się być kluczowe (15,37,102,103,111,121,124,137,138,151-154).

Do tej pory udokumentowano podwyższony poziom IL-18 w surowicy krwi u chorych w przebiegu chorób Th1 i Th2 zależnych tj. w następujących stanach:

- procesach rozrostowych układu krwiotwórczego (154-156) (zmniejszenie ekspresji IL-18 jest markerem czerniaków indukowanych ultrafioletem (157)
- zapaleniu wątroby (158-160),
- zapaleniu centralnego układu nerwowego (161)
- cukrzycy typu 1 (141)
- reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) (162,163)

- młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów (164)
- stwardnieniu rozsianym (SM) (165-168)
- chorobie Crohn'a (169,170)
- graft versus host diseases (GVHD) (171-173),
- tocznia rumieniowatego (SLE) (174,175)
- posocznicy (176,177)
- infekcji wirusowych (178,179)
- ciąży (180)
- stresie (poziom IL-18 podnoszony jest przez aktywację osi podwzgórze- przysadka-nadnercza a obniżany przez układ parasympatyczny) (26).
- chorobie wieńcowej (181)
- chorobie Netertona (104).
- astmie (104,182-184)
- alergicznym nieżycie nosa (104,186)

Badania IL-18 w przebiegu atopowego zapalenia skóry przeprowadzane były na niewielkich populacjach lub głównie wśród ludzi rasy żółtej (15,11,186,187).

Dotychczas udokumentowano znaczenie IL-18 w rozwoju chorób autoimmunologicznych, nowotworowych oraz zapalnych, z których część związana jest z obniżonym stężeniem INF γ jak np. SLE, RZS, choroba Crohn'a, łuszczyca, GVHD (100,188). Badania na modelach zwierzęcych potwierdzają zasadniczą rolę IL-18 w zapaleniu wątroby, SLE, GVHD, arteriosclerosis (99) oraz jej znaczącą funkcję w rozwoju zapalenia żołądka w odpowiedzi na zakażenie *Helicobacter pylori* (189). Dzięki poznaniu funkcji i mechanizmów działania tej cytokiny jest ona testowana jako nowy lek w immunoterapii nowotworów (190-192), a jej receptor- inhibitor w leczeniu ciężkich postaci łuszczy i RZS (97).

IL-18 jest podstawową cytokiną w walce z infekcjami bakteryjnymi, grzybiczymi, pasożytniczymi i wirusowymi działając poprzez indukcję $\text{INF}\gamma$ (15). Jest jednym z pierwszych sygnałów dla układu odpornościowego o rozpoczynającej się infekcji (37). Przez indukcję ekspresji genów: $\text{INF}\gamma$, GM-CSF (czynn timer stymulujący kolonie granulocytów i makrofagów), syntezę TNF, Fas ligand (FasL) na komórkach Th1 i NK (112,113,21,193-195), chemokin i cytokin typu Th1 przyczynia się do powstania stanu zapalnego i gorączki. Według niektórych autorów, indukcja gorączki-właściwość IL-1, $\text{TNF}\alpha$ i IL-6, nie jest cechą IL-18 (97,196,197). IL-18 nie indukuje bowiem ani cyklooxygenazy -2, ani nie wpływa na produkcję prostaglandyny E2 (198,199). Bezsprzecznie, IL-18 wzmacnia cytotoksyczność i proliferację limfocytów T CD8+, CD4+ oraz komórek NK (37,102,140). Poza tym odgrywa rolę w kontroli apetytu i rozwoju otyłości (26,99). Ostatnio postulowana jest jej rola neuro-immunomodulująca, która hipotetycznie także może tłumaczyć znaczenie IL-18 w rozwoju AZS.

Gen ludzkiej IL-18 jest zlokalizowany na chromosomie 11q22.2-22.3 (15,35,122,150). Jego masa wynosi 20,8 kb (95). Składa się z 6 exonów, a jego ekspresja kontrolowana jest przez 2 promotory: promotor 1 (exon1) i promotor 2 (exon 2), z kodonem startującym zlokalizowanym w exonie 2 (123). Warto nadmienić, że chromosom 11q22 został zidentyfikowany jako gen kandydat dla atopii. (15,35,200,201)

Przeprowadzone dotychczas badania wykazały związek polimorfizmu genu IL-18 z chorobą Crohna (202), jego brak w colitis ulcerosa (203) oraz związek polimorfizmu w genie IL18RAP, zarówno z chorobą Crohna, jak i z colitis ulcerosa (204). Badano polimorfizm genu IL-18 w cukrzycy w pozycji 607c/a, 137g/c w populacji polskiej (205), japońskiej (206), kaukaskiej (207) i chińskiej (208). W

stwardnieniu rozsianym nie znaleziono znaczących statystycznie różnic w polimorfizmach 607 C/A i 137 G/C (209). W reumatoidalnym zapaleniu stawów (122) polimorfizm 607 C/A, 137 G/C u rasy żółtej pozostawał bez związku z chorobą (210), natomiast w rasie kaukaskiej znaleziono związek polimorfizmu genu IL-18 z występowaniem choroby (211). W populacji polskiej nie znaleziono zależności polimorfizmu z przebiegiem i ciężkością choroby (212). W młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów wykazano związek polimorfizmu w genie IL-18 z chorobą (213,214). U chorych z GVHD polimorfizmy 137 G/C, 607 C/A, 656 G/T warunkowały statystycznie znacząco mniejsze ryzyko śmierci (215,216). Udowodniono, że polimorfizm w promotorze genu IL-18 607C/A i 137G/C ma związek z patogenezą przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C (160), a haplotyp 657, 607, 137, 241, 127 odpowiada za większą śmiertelność z powodu chorób sercowo- naczyniowych (181). Polimorfizm genu IL-18 wykazuje także związek z rozwojem choroby Kawasaki w populacji chińskiej (217). Postulowano, że indywidualne różnice w stężeniu IL-18 w surowicy krwi w różnych stanach zapalnych mogą wynikać z genetycznych wariacji w genie IL-18, które dotyczą regionów 5'UTR (untranslated region) i 3' UTR oraz wariacji w proksymalnym promotorze, co może powodować różnice w częstotliwości translacji i stabilności mRNA (95)

W kręgu chorób alergicznych potwierdzono związek polimorfizmu 105A/C genu IL-18 z patogenezą astmy oskrzelowej w populacji japońskiej (218), chińskiej (219) oraz 137 G/C w populacji szwedzkiej, a także związek tego polimorfizmu z dodatnimi testami prick (111). Ponadto wykazano związek polimorfizmu receptora 1 IL-18 z astmą (220,221). Opisano również związek wariantów genetycznych (-148 G/C, 13925A)C)Ser35Ser)) IL-18 z poziomem specyficznego wobec roztoczy kurzu domowego IgE u pacjentów z astmą w populacji koreańskiej, ale nie wykazano żadnego

związku polimorfizmu genu IL-18 z ryzykiem rozwoju astmy oskrzelowej (139). W niemieckiej populacji atopików ujawniono związek polimorfizmu (127G/T w exonie 1) genu IL-18 z alergicznym nieżytem nosa oraz związek polimorfizmu nukleotydu (133G,promotor2 exon2) genu IL-18 z podwyższonym poziomem IgE i wrażliwością specyficzną na powszechnie występujące alergen (122). Na podstawie badań populacji czeskiej sugerowano, że warianty genetyczne IL-18 mogą brać udział w patogenezie alergicznego nieżytu nosa (222). Opublikowano również badania polimorfizmu w promotorze genu łańcuch α receptora IL-18 (950del CAG) i wykazano wpływ tej delecji na zredukowaną produkcję INF γ (115).

Badacze niemieccy (103) u chorych z AZS wykazali związek polimorfizmów (113T/G i 127C/T w exonie 1, -137 G/C w promotorze 1 i 133G/C w promotorze 2) genu IL-18 z wysokim poziomem IgE i nadwrażliwością specyficzną. Związek polimorfizmu RS 795467 haplotypu T-T-C z alergicznym typem AZS wykryto w populacji koreańskiej (15).

Dane genetyczne oraz immunologiczne wyjaśniające funkcje IL-18 teoretycznie wskazują na kluczową rolę tej cytokiny w patogenezie i rozwoju AZS. Pracę tę poświęcono badaniom związku IL-18 z występowaniem, przebiegiem i charakterystyką AZS.

2.4.3 Środowisko

W rozwój AZS zaangażowane są również czynniki środowiskowe. Wiadomo, że różne substancje pokarmowe mogą wywoływać zapalenie skóry (223). U dzieci z AZS o średnim i ciężkim przebiegu pokarm powoduje blisko 40% zmian na skórze (66,224). Głównymi alergenami pokarmowymi są orzechy, soja, jaja, mleko, mąka.(4)

Szeroko udokumentowany jest wpływ alergenów powietrzno pochodnych na przebieg AZS (4,225). Pierwsze badania wpływu pyłków na AZS przeprowadził Tuft w 1949 roku (226). Harving i wsp. (227) wykazali także znaczącą poprawę w przebiegu AZS po odizolowaniu chorych od kontaktu z roztocami kurzu domowego oraz nasilenie zmian skórnych pod wpływem alergenów zwierzęco pochodnych (psy, koty, karaluchy). Znane są również nieimmunologiczne czynniki drażniące, które zaostrzają przebieg AZS. Należy do nich: wełna, materiały syntetyczne, zmniejszona wilgotność powietrza, klimatyzacja, pocenie się, mycie się w gorącej wodzie, używanie gąbek i mydeł zapachowych (4,9,228).

U wielu pacjentów z AZS obserwujemy pogarszanie stanu skóry zimą, a poprawę latem (229).

Niemalą rolę w patogenezie AZS odgrywają mikroorganizmy. Wykazano, że zwiększone stężenie IL-10 przy zmniejszonym stężeniu INF γ , które obserwujemy w przebiegu AZS, wpływa na zwiększoną podatność na zakażenia u chorych z AZS (59,85). Skóra chorych na AZS jest w ponad 90% przypadków skolonizowana przez gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*- S.a.) (66,230). Zjawisko to tłumaczy się obniżoną produkcją β - defenzyny (peptyd produkowany przez keratynocyty o właściwościach antybiotyku) (66) oraz supresją odpowiedzi typu komórkowego u pacjentów z AZS (231). Stopień kolonizacji skóry gronkowcem koreluje z ciężkością przebiegu choroby (232-235). Ponadto drapanie zwiększa wiązanie S.a. ze skórą, a zwiększona ilość ceramidazy gronkowcowej zwiększa defekt bariery skórnej (7). Toksyny S.a A, B, C, D, E ,G oraz TSST-1 (toksyna 1 zespołu szoku toksycznego)- mogą działać jak superantygeny prowadząc do bezpośredniej stymulacji limfocytów T i makrofagów na drodze antygenowo niezależnej i nasilać reakcję zapalną (4,236,237). Ponadto, u pacjentów z AZS wykryto antygenowo specyficzne IgE przeciwko

antygenom toksyn S.a., co dodatkowo potęguje reakcję zapalną (230,232). Wyżej opisane czynniki mają także zdolność degranulacji mastocytów (238).

Natsui i wsp (85) wykazali, że peptydoglikan gronkowca złocistego (PEG) może wpływać na dominację układu Th2 u pacjentów z AZS poprzez produkcję IL-4 z limfocytów T CD4⁺ stymulowanych indukowaną przez PEG IL-18.

Niektóre fragmenty bakteryjnego DNA indukują sekrecję IL-18 przez aktywację TLR dając zmiany skórne w AZS zależne od IL-18 (52).

Poprzez zjawisko molekularnej mimikry białkowych antygenów, uwalnianych z keratynocytów pod wpływem drapania i epitopów pochodzenia alergenowego lub mikrobiologicznego, u pacjentów z AZS dochodzi do powstania przeciwciał IgE przeciwko autoantygenom (239-242). Po raz pierwszy zostały one opisane w 1924 r przez Kellera (243). Okazało się, że można je wykryć już w 1 roku życia pacjenta, a występują u ok. 25% dorosłych pacjentów z AZS (244). Poziom autoprzeciwciał koreluje z ciężkością przebiegu choroby.

W ostatnim czasie Bieber i wsp (7,17) wyrazili opinię, że AZS wydaje się stać na granicy pomiędzy alergią i autoimmunologią. Pomimo że odpowiedź IgE zależna jest inicjowana przez alergeny środowiskowe, alergiczne zapalenie może być utrzymane przez ludzkie endogenne antygeny, szczególnie ma to miejsce w ciężkich przypadkach AZS.

Niektórzy autorzy donoszą o zaostrzeniach w przebiegu AZS u kobiet w okresie przedmiesiączkowym oraz w w I i II trymestrze ciąży i o poprawie w ostatnim jej trymestrze (245).

2.4.4. Czynniki psychiczne

U pacjentów z AZS i ich rodzin obserwujemy znaczne obniżenie jakości życia (246-250). Zaburzenia snu mają negatywny wpływ na aktywność dzienną chorych, obserwujemy u nich gorsze relacje społeczne, zaburzenia w obszarze życia seksualnego, problemy w pracy (9,246). Zaburzenia psychiczne i psychologiczne powodowane chorobą negatywnie wpływają na sam jej przebieg. Czynniki psychologiczne mają szczególne znaczenie w zaostrzeniu AZS u dzieci i młodzieży (9). Stres i niepokój są związane z uwalnianiem neuropeptydów, które działając na komórki efektorowe pobudzają wydzielanie mediatorów prozapalnych (9). W patogenezę AZS zaangażowane są neuropeptydy, takie jak substancja P (SP), peptyd genu kalcytoniny oraz vasoactive intestinal peptide (VIP) (251). SP prowokuje degranulację mastocytów i ma zdolności wazodilatacyjne (4,252). Nerwowy czynnik wzrostu (NGF) ma właściwości chemoatraktanta oraz wpływa na funkcję i nasilenie reakcji obwodowych neuronów sensorycznych (71,253). NGF reguluje syntezę innych neuropeptydów, może prowadzić do proliferacji limfocytów T i B, aktywacji i różnicowania eozynofili, degranulacji komórek tucznych a także podnosi aktywności GM-CSF. Ponadto NGF uczestniczy w prowokacji świądu na drodze pośredniej i bezpośredniej. U pacjentów z AZS obserwuje się statystycznie znaczący wzrost mRNA dla NGF (71). Poza nim, w prowokacji świądu uczestniczą proteazy, enzymy pozakomórkowe (27), kininny i cytokiny (7), głównie IL-31 (254). IL-31 produkowana przez komórki T stymuluje produkcję cytokin zapalnych. Po stymulacji in vitro egzotoksynami gronkowca złocistego w zmianach skórnych w przebiegu AZS obserwuje się zwiększoną ekspresję IL-31 i jej receptora (255-257).

W latach 60-tych udział czynników psychicznych w zaostrzeniu AZS tłumaczono zaburzeniami równowagi w układzie adrenergicznym, wynikającymi z zablokowania

receptorów β adrenergicznych, co powodowało łatwiejsze uwalnianie mediatorów zapalnych z komórek tucznych (teoria Szentivanyiego) (4).

Obecnie Sugama i wsp. (258) postulują neuro-immuno- modulującą rolę IL-18 w przebiegu AZS (258).

2.4.5. Bariera skórna

Defekt bariery naskórkowej jest dobrze znaną cechą AZS (259-262). W nieodległej przeszłości uważano, że jest on wynikiem nieprawidłowości immunologicznych (17,78,263). Ostatnio wśród badaczy zaczyna dominować przekonanie, że u pacjentów z AZS, wtórnie do zaburzeń bariery naskórkowej dochodzi do zaburzeń immunologicznych, które z kolei pogłębiają już istniejący defekt bariery skórnej (outside- inside- outside teoria patogenezy AZS) (26,27,228,264-266). Zatem, defekt bariery skórnej zaczyna być postrzegany jako zaburzenie pierwotne i za punkt wyjściowy rozwoju AZS (7,26,27).

U osób zdrowych lipidy międzykomórkowe zachowują stałe proporcje: cholesterol stanowi ok. 25-30% wszystkich związków lipidowych, ceramidy 40-50%, a wolne nasycone i nienasycone kwasy tłuszczowe 10-20%. Prekursory lipidów międzykomórkowych powstają w efekcie działania fosfolipazy A₂, w warstwie kolczystej, w ciałkach Odlanda (uwypukleniach aparatu Golgiego). Zgromadzone w ciałkach Odlanda fosfolipidy, sfingolipidy, glicerolipidy, glukozylocerebrozydy i cholesterol w procesie egzocytozy transportowane są do przestrzeni międzykomórkowej, gdzie na pograniczu warstw kolczystej i ziarnistej następuje ich enzymatyczne przekształcenie w ceramidy i wolne kwasy tłuszczowe (267,268). Lipidy naskórkowe spajając korneocyty chronią naskórek przed nadmierną utratą wody,

hamują kolonizację skóry przez patologiczną florę bakteryjną i ograniczają penetrację antygenów do głębszych warstw naskórka (269).

U pacjentów z AZS stwierdza się zaburzenia funkcji fosfolipazy A2 objawiające się znaczącymi odchyleniami w koncentracji i dystrybucji zarówno nasyconych jak i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Obserwowany jest dwukrotny wzrost poziomu naskórkowych fosfolipidów, jednonienasyconych kwasów tłuszczowych frakcji fosfoglicerydów i spadek estryfikowanego kwasu arachidonowego (270). Obserwowane jest również zmniejszenie ilości ceramidów w stratum corneum. Wpływa to niekorzystnie na przeznaskórkową utratę wody (Transepidermal water loss - TEWL) i prowadzi nie tylko do utraty spójności bariery naskórkowej, ale także znacznie zmniejsza elastyczność naskórka, przez co staje się on bardziej podatny na mikrourazy i pęknięcia (271). Poza zaburzeniami metabolizmu lipidów i niedoborem ceramidów, w AZS obserwujemy obniżoną aktywność δ -6 desaturazy, nieprawidłową syntezę prostaglandyn, tromboksanu i leukotrienów (225). Ostatnio kluczową rolę w powstaniu defektu bariery skórnej przypisuje się nieprawidłowościom w produkcji filagryny (272-274). Filagryna powstaje z profilagryny- głównego składnika ciałek keratohyaliny. Jest ona wbudowywana w tzw. otoczkę zrogowaciałą komórek (cornified cell envelope) w wyniku aktywności enzymu transglutaminazy 1. Ponadto metabolizm filagryny prowadzi do powstawania wewnętrznego czynnika nawilżającego. Wraz z lorikryną i inwolukryną decyduje ona o tworzeniu zbitej, odpornej na czynniki chemiczne i fizyczne warstwy rogowej, stanowiącej szkielet architektoniczny bariery naskórkowej (275). Brak filagryny lub zaburzenia jej metabolizmu, obserwowane u pacjentów z AZS objawiają się suchością skóry związaną z nieprawidłowo wykształconą warstwą rogową, obniżeniem ilości wewnętrznego czynnika nawilżającego, zmniejszoną hydratacją warstwy rogowej i zwiększoną przeznaskórkową utratą wody (17, 228, 275).

Zmniejszona ilość produktów proteolizy filagryny inicjuje wzrost pH skóry wystarczający do aktywacji proteaz serynowych w warstwie rogowej i związaną z tym nieprawidłową krystalizację lipidów (275,276). W efekcie zwiększonego pH skóry, obniżenia poziomu wolnych kwasów tłuszczowych, metabolitów ceramidów i sfingozyny (7,277-279) obserwujemy zwiększoną kolonizację skóry przez gronkowca złocistego oraz skłonność do wtórnych infekcji wirusowych i grzybiczych (*Malassezia* i *Herpes simplex*), które nasilają proces zapalny (228). Dodatkowo, w przebiegu AZS obserwuje się hamowanie peptydów antybakteryjnych takich jak np. produkt ludzkiej katelicydyny (hCAP)- peptyd LL-37, który jest niezbędny do utrzymania prawidłowej funkcji bariery skórnej (280-282).

2.5. OBRAZ KLINICZNY

Do rozpoznania AZS najczęściej stosuje się kryteria Hainifina i Rajki (17,225,283). Niektórzy klinicyści stosują także kryteria Williams'a i wsp (284) oraz Ring'a (285).

Tabela nr 2. Kryteria rozpoznania AZS (4,17,225)

Kryteria główne	Kryteria dodatkowe
Świąd	Suchość skóry
Typowa morfologia i lokalizacja zmian	Rybia łuska
Przewlekły i nawrotowy przebieg	Dodatnie testy prick
	Rogowacenie przymieszkowe
	Obecność nadwrażliwości typu I
Istnienie w wywiadzie u pacjenta lub w rodzinie atopii	Podwyższony poziom IgE w surowicy
Dodatnie testy trick	Wczesny początek choroby
Biały dermografizm	Upośledzenie odporności komórkowej i skłonność do zakażeń skóry
Zaćma podtorebkowa przednia	Wyprysk dłoni i stóp
	Zpalenie brodawek sutkowych

	Zapalenie czerwieni wargowej Nawrotowe zapalenie spojówek Objaw Dennie- Morgana, Hertoghe’a Stożek rogówki Zacienienie wokół oczu Przednia zaćma podtorebkowa Łupież biały Rumień tawarzy Świąd podczas pocenia Nietolerancja wełny Nietolerancja pokarmowa Pogrubienie fałdów szyi Dermografizm biały Zaostrzenie pod wpływem stresu i czynników środowiskowych (prysznic, kąpiel, zimno)
--	---

W przebiegu choroby wyróżniamy 3 fazy:

- Faza niemowlęca- obejmuje 3-6 m-c życia. Zmiany mają charakter pęcherzykowo- grudkowo- rumieniowy, podobnie jak w ostrym wyprysku. Zlokalizowane są głównie na skórze policzków oraz skórze owłosionej głowy. (Ryc. nr 5).

Rycina nr 5. Zmiany na policzkach w przebiegu AZS.



- Faza dziecięca- rozwija się z poprzedniej lub powstaje de novo; obejmuje okres od 2 do 12 r.ż. Zmiany skórne są symetryczne, mniej wysiękowe, nieostro odgraniczone, o charakterze rumieniowym- grudkowym z przeczosami, małymi strupami, naciekami zapalnymi i lichenifikacją. Dotyczy powierzchni grzbietowych dłoni i stóp, zgięć stawowych, rzadziej karku, policzków lub powiek. (Ryc. nr 6-9).

Rycina nr 6 i 7. Zmiany na dłoniach i twarzy w przebiegu AZS.



Rycina 8 i 9. Zmiany w zgięciach łokciowych, twarzy i tułowie w przebiegu AZS.



- Faza dorosłych występuje po 12 r.ż. Skóra jest pogrubiała z lichenifikacją, pojawia się łuszczenie i silnie zaznaczone pobruzdowanie. Towarzysza temu zmiany o charakterze rumieniowo- grudkowym, nadżerki i przeczosy. Wykwity symetrycznie zajmują powieki, czoło, okolice okołoustną, kark, szyję, górną część klatki piersiowej, doły zginaczy i grzbietową powierzchnię rąk. Paznokcie wyglądają jak polakierowane, na szyi obserwuje się szarobrązowe siatkowanie, wokół oczu zacienienie, na ramionach może wystąpić łupież biały (4,7,17,225). (Ryciny nr 10-13).

•

Rycina nr 10 i 11. Zmiany w zgięciach kolanowych i łokciowych w przebiegu AZS.



Rycina nr 12 i 13. Zmiany w zgięciu łokciowym i na dłoniach w przebiegu AZS- lichenifikacja i przeczosy.



2.6. OBRAZ HISTOLOGICZNY

Ostre zmiany wypryskowe charakteryzuje zwyrodnienie wodniczkowe keratynocytów z wytworzeniem w naskórku stanu gąbczastego- spongiozy, ogniskowy obrzęk wewnątrzkomórkowy, akantoza, ogniskowa parakeratoza oraz okołonaczyniowy naciek z limfocytów, monocytów, makrofagów komórek dendrytycznych w skórze właściwej.

Przewlekłe zmiany wypryskowe wyróżnia przerost naskórka, zgrubienie warstwy kolczystej, wyraźna hiper- i parakeratoza, naciek zapalny w skórze właściwej z limfocytów i histiocytów oraz wyraźne włóknienie (4,7,17,66)

2.7. RÓŻNICOWANIE

- przewlekłe dermatozy: (łojotokowe zapalenie skóry, kontaktowe zapalenie skóry, wyprysk pieniążkowy, łuszczyca, rybia łuska)
 - zaburzenia metaboliczne (fenyloketonuria, niedobór cynku, biotyny, niacyny)
 - genodermatozy (zespół Comela- Nethertona, Histiocytoza X, Dysplazja ektodermalna dziedziczna)
 - niedobory odpornościowe(zespół Wiskotta- Aldricha, atalia- teleangiektasia, zespół Brutona, niedobór IgA, przewlekła choroba ziarniniakowa, zespół DiGorge, zespół hyper IgE),
 - nowotwory układu chłonnego skóry,
 - zakaźne (świerzb, grzybica powierzchowna skóry).
- (4,17,225)

2.8. LECZENIE

Coraz wnikliwsze badania patogenezy AZS pozwalają na wdrażanie skuteczniejszych metod leczniczych tego schorzenia.

Niemalą rolę w profilaktyce i poznaniu choroby przez pacjentów, a przez to lepszą pielęgnację skóry i zredukowanie epizodów zaostrzeń choroby, uzyskujemy dzięki działalności szkół alergii.

Większość pacjentów wie, że unikanie alergenów, czynników drażniących, zachowanie diety atopowej i odpowiednia pielęgnacja może uchronić ich przed nawrotami choroby i pozwala radzić sobie z chorobą bez interwencji lekarskiej.

W ochronie skóry preferuje się mydła o neutralnym pH, natłuszczanie i nawilżanie skóry (17). Zabiegi z użyciem odpowiednich emolientów redukują potrzebę używania miejscowych sterydów (286). Powołując się na najnowsze badania zaleca się stosowanie preparatów z lipidami, z dominacją ceramidów zawieszonymi w kwasowej formule (228).

W okresach zaostrzeń stosuje się miejscowe glikokortykosterydy w terapii pulsowej i inhibitory kalcyneuryny, szczególnie w miejsca delikatne- zgięcia i twarz. (287-289). Zaleca się stosowanie leczenia p/bakteryjnego, a w uzasadnionych przypadkach i przeciwwirusowego (eruptio variceliformis Kaposi).

W terapii doustnej stosujemy antyhistaminiki, kortykosterydy doustnie, cyklosporynę A (4,225,252). W leczeniu AZS swoje miejsce znajduje także fototerapia, szczególnie UVB 311 i PUVA (4,225,290). Niektórzy autorzy polecają metody niekonwencjonalne (25).

Próby blokady prozapalnych cytokin- anty/TNF α dawały krótkotrwały efekt (287). Ciekawym rozwiązaniem wydaje się być białko wiążące interleukinę 18 (IL-18 BP) (287). Obserwowana poprawa po stosowaniu IFN γ ze względu na obserwowane

efekty uboczne nie znalazła zastosowania powszechnego (287). Stosowanie INF α dawało minimalny efekt (291,292), a lepsze rezultaty osiągnano u chorych z prawidłowym poziomem IgE i bez eozynofilii (293).

3. CELE I ZAŁOŻENIA PRACY

Mając na uwadze wyżej opisane funkcje IL-18 i badania genetyczne dotyczące tej cytokiny wydaje się, że cytokina ta ma istotne znaczenie dla rozwoju atopowego zapalenia skóry (AZS).

Do tej pory udokumentowano podwyższony poziom IL-18 w surowicy krwi w przebiegu różnych chorób Th1 i Th2 zależnych. Badania IL-18 u chorych z AZS przeprowadzane były na niewielkich populacjach i głównie wśród ludzi rasy żółtej.

Gen ludzkiej IL-18 jest zlokalizowany na chromosomie 11q22.2-22.3, a region ten został zidentyfikowany jako gen „kandydat” dla atopii. Dotychczas potwierdzono związek polimorfizmu genu IL-18 z patogenezą niektórych chorób autoimmunologicznych i alergicznych. W literaturze związek polimorfizmów genu IL-18 z AZS przedstawiano głównie w odniesieniu do ludzi rasy żółtej. W Polsce badań takich dotychczas nie przeprowadzano.

W związku z powyższym praca ta została poświęcona głównie badaniom związku IL-18 z występowaniem, przebiegiem i charakterystyką AZS w populacji polskiej.

Szczegółowe cele pracy:

1. Poszukiwanie związku między stężeniem IL-18 w surowicy krwi, a występowaniem atopowego zapalenia skóry.
2. Ocena stężenia IL-18 w surowicy krwi chorych na AZS w zależności od ciężkości przebiegu choroby.

3. Zbadanie korelacji między stężeniem IL-18, a poziomem IgE w surowicy krwi chorych na AZS oraz próba oceny wpływu stężenia IL-18 na rozwój AZS niezależnego od IgE.
4. Stwierdzenie czy zachodzi związek stężenia IL-18 z wiekiem wystąpienia AZS, wiekiem pacjenta i jego płcią, zaburzeniami snu, nasileniem świądu, eozynofilią oraz występowaniem nadwrażliwości specyficznej.
5. Porównanie stężenia IL-18 oraz IgE w surowicy krwi chorych na AZS i inne choroby z kręgu atopii (astma, alergiczny nieżyt nosa, alergiczne zapalenie spojówek), z poziomem IL-18 oraz IgE w surowicy krwi chorych na AZS bez współistnienia tych chorób.
6. Poszukiwanie związku między polimorfizmem -137 G/C genu IL-18 a rozwojem AZS.
7. Ocena wpływu polimorfizmu genu IL-18 na występowanie AZS z prawidłowym lub podwyższonym poziomem IgE.
8. Ocena wpływu określonych wariantów genetycznych w obrębie genu IL-18 na poziom IgE i IL-18 u pacjentów z AZS.
9. Ocena wpływu określonych wariantów genetycznych w obrębie genu IL-18 na poziom IL-18 w grupie pacjentów z AZS z podwyższonym poziomem IgE.
10. Zbadanie związku polimorfizmu -137 G/C genu IL-18 z płcią pacjenta, ciężkością przebiegu AZS, nadwrażliwością specyficzną, eozynofilią oraz zaburzeniami snu.
11. Stwierdzenie, czy warianty genetyczne w regionie -137G/C genu IL-18 u chorych z AZS różniły się od wariantów genetycznych tej interleukiny u chorych na AZS z współistniejącymi innymi chorobami atopowymi (astmą, alergicznym zapaleniem spojówek lub alergicznym nieżytem nosa).

4. MATERIAŁ I METODYKA

Do badania włączono 117 osób: 67 chorych z AZS ustalonym na podstawie kryteriów Hanifina i Rajki oraz 50 osób zdrowych, które stanowiły grupę kontrolną. Z badania wykluczono pacjentów z AZS będących w trakcie leczenia metodą fototerapii, cyklosporyną A, doustnymi kortykosteroidami, miejscowymi preparatami będącymi inhibitorami kalcyneuryny takimi jak: pimekrolimus i takrolimus oraz chorych w trakcie lub po immunoterapii swoistej, dzieci poniżej 5 roku życia, kobiety karmiące piersią i ciężarne, chorych z chorobami zapalnymi, infekcyjnymi, autoimmunologicznymi i nowotworowymi.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Gdańsku.

Od pacjentów pobrano krew żylną do odpowiednich probówek (EDTA oraz „na skrzep”). Materiał biologiczny został pobrany jednorazowo, za pomocą jednorazowych igieł i strzykawek, z zachowaniem warunków aseptyki. Po odwirowaniu (w przypadku pozyskiwania surowicy) zabezpieczony w temp -72°C .

Stężenie IL-18 oznaczano przy pomocy manualnych zestawów testów immunoenzymatycznych do diagnostyki in vitro z możliwością ilościowej detekcji IL-18 w surowicy krwi metodą ELISA. Zestaw ten składa się z:

- płytki aluminiowej z 96 studzienkami opłaszczonymi ludzkimi monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko IL-18,
- koniugatu biotyny wiążącej przeciwciała przeciw IL-18,
- streptawidyny, która wiąże się z koniugatem biotyny,
- koncentratu do przygotowania buforu przemywającego,
- roztworu podtrzymującego i zatrzymującego reakcję,

- standardów kontrolnych z gotową IL-18 oraz barwników.

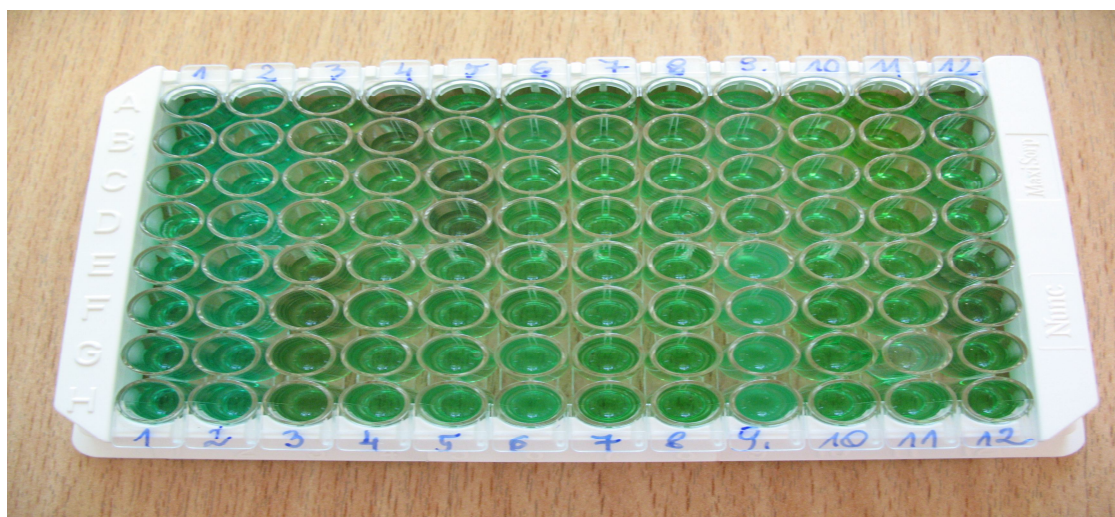
Ryc. nr 14. Elementy zestawu do oznaczania stężenia IL-18.



W pierwszym etapie, po przygotowaniu buforów, barwników i rozcieńczeń standardów kontrolnych do studzienek podawano 7 próbek z kontrolną, fabryczną IL-18, oraz 50 μ l każdej badanej próbki surowicy (ok. 39 na płytkę) oraz próbę ślepą. IL-18 z badanej surowicy lub standardu wiązała się z przeciwciałem p/IL-18.

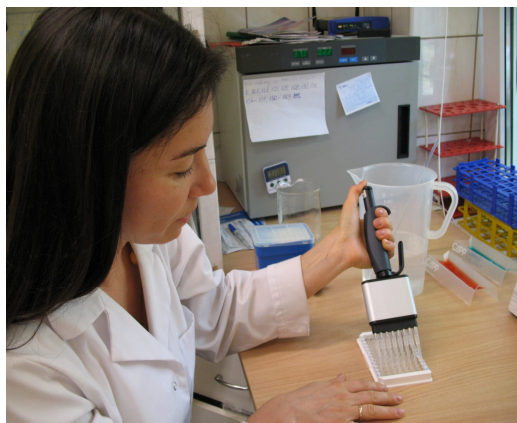
Następnie po dodaniu koniugatu biotyny zestaw był inkubowany w temperaturze pokojowej przez dwie godziny (Ryc. nr 15).

Rycina nr 15. Zestaw po dodaniu koniugatu biotyny.



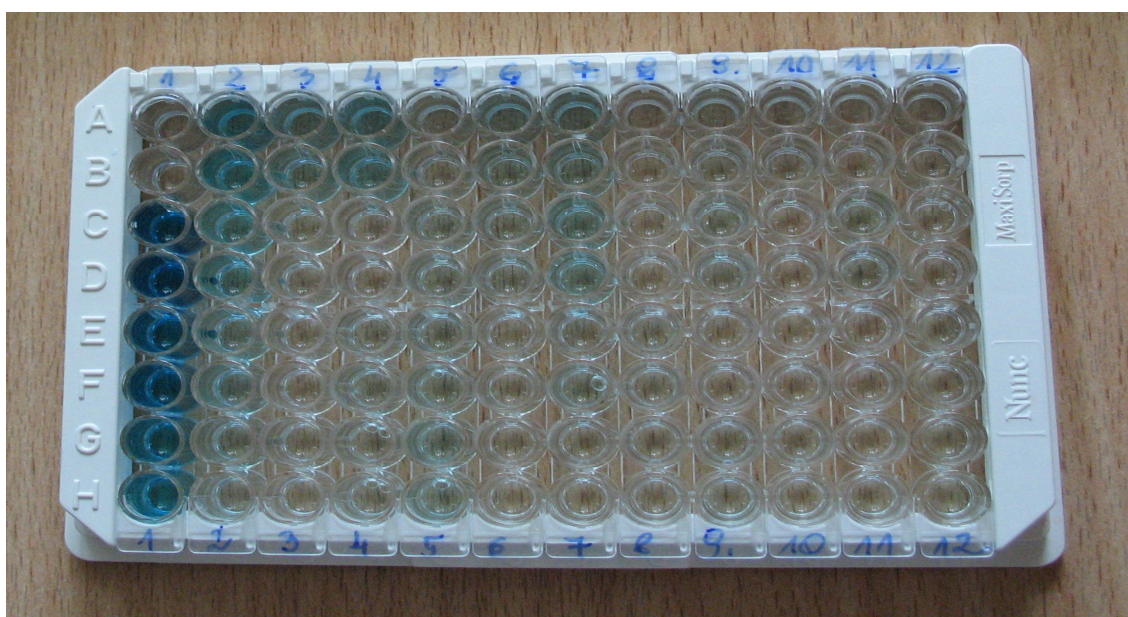
Po zakończeniu inkubacji i 3-krotnym przemyciu studzienek dodawano streptawidynę, zabarwioną czerwonym barwnikiem. (Ryc. nr 16).

Rycina nr 16. Przemycanie i dodawanie streptawidyny do badanych surowic.



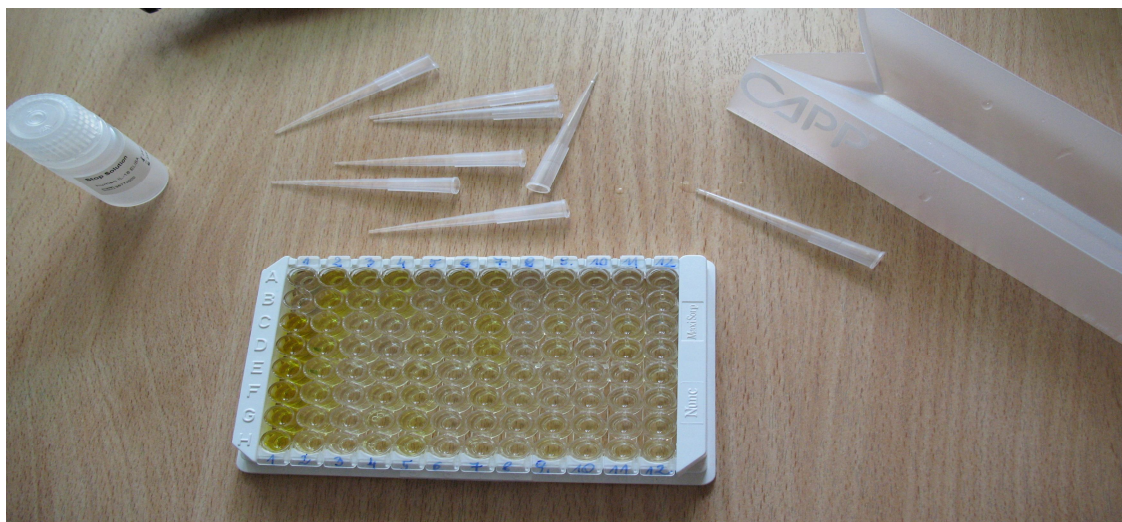
W kolejnym etapie po drugiej godzinnej inkubacji przeprowadzonej w temperaturze pokojowej, w trakcie której do kompleksu przeciwciała anty IL-18/IL-18 przyłączała się streptawidyna i kolejnym przemyciu dodawano substrat rozwijający wyżej opisaną reakcję. (Ryc. nr 17).

Rycina nr 17. Widoczna reakcja IL-18/przeciwciała monoklonalne.



Na zakończenie, po dodaniu enzymu zatrzymującego zachodzącą reakcję (Ryc. nr 18), następowało odczytanie wyników przeprowadzone przy użyciu spektrofotometru o długości fali 450nm.

Rycina nr 18. Dodanie roztworu zatrzymującego reakcję immunoenzymatyczną.



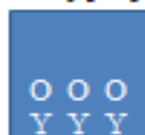
Poziom IgE szacowano testem fluoroimmunoenzymatycznym wykonanym przy pomocy aparatu UniCap 100, stosując metodę ELISA. (Ryc. nr 19).

Rycina nr 19. Schemat metody ELISA.

Anty/IgE /Y/ kowalencyjnie związane w próbówce ImmunoCap.



Dodanie surowicy pacjenta z całkowitym IgE. /O/



Po odpłukaniu dodanie znakowanych enzymem przeciwciał p/IgE /X/



Po inkubacji związany kompleks jest poddawany inkubacji ze środkiem rozwijającym. Po zatrzymaniu reakcji następuje pomiar fluorescencji eluatu.

Do oceny polimorfizmu genu kodującego IL-18 wykorzystano technikę PCR-
allospecyficzną reakcję łańcuchowej polimerazy, która pozwala na selektywną
amplifikację wybranych regionów DNA w warunkach in vitro poprzez naśladowanie
replikacji komórkowej zachodzącej in vivo.

Zestaw PCR składa się z:

- wyizolowanego DNA,
- primerów (sekwencji oligonukleotydów komplementarnych do końców zdefiniowanej sekwencji matrycowego DNA) specyficznych i kontrolnych,
- odpowiednich trójfosforanów deoksynukleotydów (dNTP)
- polimerazy DNA.

Rycina nr 20. Zestaw do przeprowadzenia PCR.



Do wyizolowania DNA z próbek krwi pacjentów wykorzystuje się zdolność
DNA do wiązania się do złożów krzemionkowych w wysokich stężeniach soli
chaotropowych.

Najpierw krew lizowana była w odpowiednim buforze lizującym z solami
chaotropowymi i niejonowymi detergentami. Po lizie komórek, w której dodatkowo
uczestniczy proteinaza K i degradacji białek, uzyskana mieszanina наносzona była na
minikolumnę ze specjalnym złożem krzemionkowym. DNA przechodząc przez złożo

osiadało na nim, podczas gdy zanieczyszczenia przechodziły dalej. Po wypłukaniu z kolumny zanieczyszczeń, oczyszczone DNA wymywane było z kolumny niskojonowymi buforami lub wodą.

Następnie uzyskana podwójna nić DNA była denaturowana w temperaturze 94°C do jednoniciowego, matrycowego DNA. W kolejnym etapie (tzw. annelingu) do komplementarnego miejsca matrycy DNA w temperaturze 61°C dołączane były odpowiednie primery.

Dla miejsca 137 użyto primerów: 5'-AGGAGGGCAAATGCACTGG-3' i dwóch specyficznych dla poszukiwanej sekwencji: 5'-CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAC-3' lub 5'-CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAC-3', które amplifikowały produkt 261-bp oraz primera kontrolnego 5'-CCAATAGGACTGATTATTCGCA-3'. Stąd dla każdego DNA zostały przeprowadzone 3 reakcje PCR – kontrolna i właściwa. Następnie w temperaturze 72°C odbywało się wydłużanie primera od końca 3'-OH przez sukcesywne dosyntetyzowanie trójfosforanów deoksynukleotydów (dNTP) G lub C.

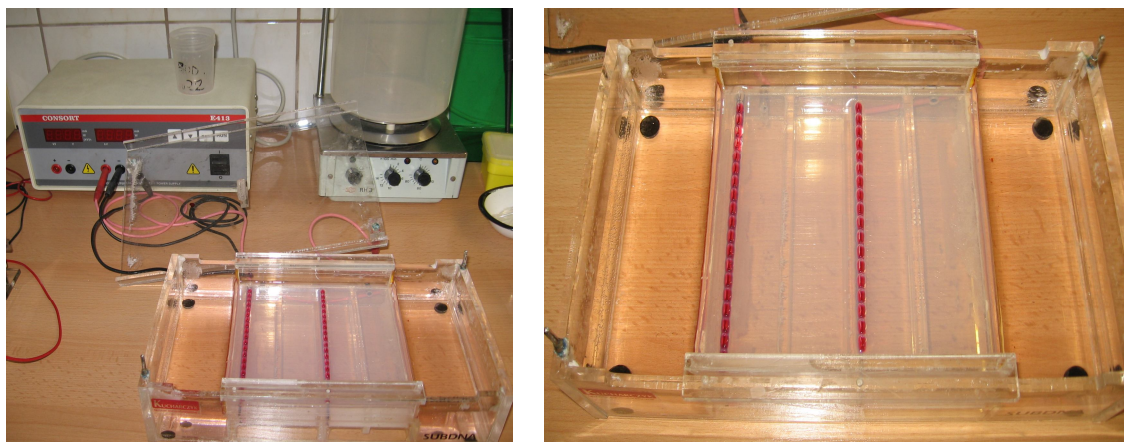
Reakcja przyłączania nukleotydów i powielanie fragmentu DNA była przeprowadzona w termocyklerze Appendorf (Ryc. nr 21). W pierwszym 4-minutowym cyklu przeprowadzono denaturację w temp 94°C. Następnie 6 cykli w temp 94°C przez 40s, w 68°C przez minutę i w 72°C przez minutę oraz 31 cykli w temperaturze 94°C 40s, 61°C przez 30s i w 72°C przez minutę (208).

Rycina nr 21. Termocykler.



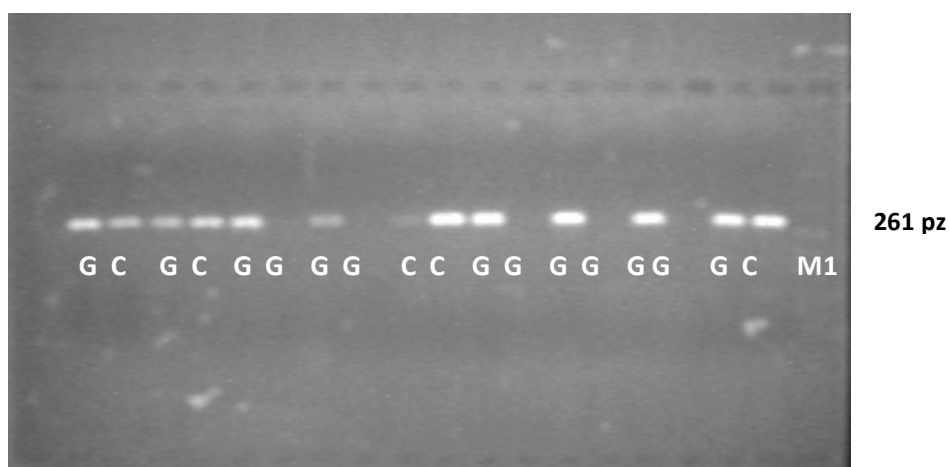
Następnie objętość 10µl mieszaniny z każdej probówki była наносzona na 2% żel agarozowy. (Ryc. nr 22).

Rycina nr 22. Żel agarozowy z naniesionymi produktami amplifikacji.



Odczyt żelu w świetle UV i fotografię wyników przedstawia rycina nr 23.

Rycina nr 23. Żel z uwidocznieniem amplifikowanych nukleotydów G/C, C/C, G/G.



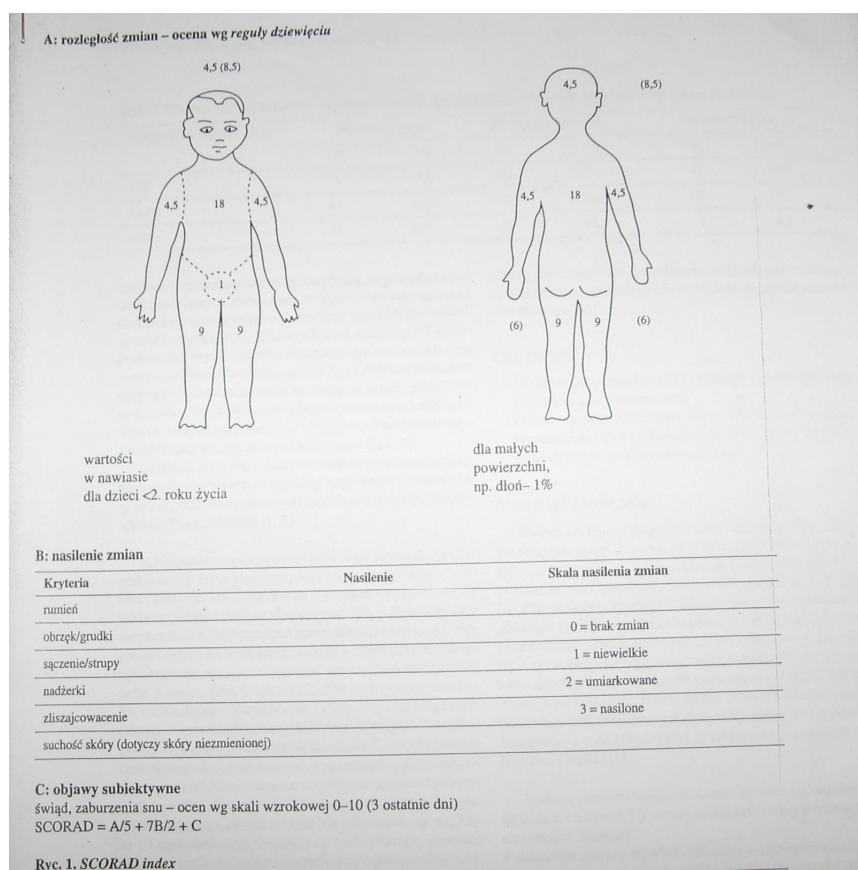
Ciężkość przebiegu AZS oceniano na podstawie skali SCORAD (Severity Score of Atopic Dermatitis). Szacuje ona:

A. rozległość zmian skórnych wg reguły dziewiątek,

- B. nasilenie zmian skórnych przy użyciu skali 0-3 do oceny rumienia, nadżerek, obrzęku, grudek, ścżenia, strupów, zliszajowacenia i suchości skóry
- C. objawy subiektywne takie jak świąd i zaburzenia snu wg punktacji 0-10.

SCORAD oblicza się zgodnie ze wzorem $SCORAD = A/5 + 7B/2 + C$ i na podstawie otrzymanego wyniku kwalifikuje chorobę do postaci lekkiej <20pkt, średniej (20-60pkt) lub ciężkiej >60 pkt.

Rycina nr 24. Skala SCORAD.



Wszystkie obliczenia wykonano za pomocą pakietu statystycznego StatSoft STATISTICA wersja 8.0 oraz arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel wersja 2003. Posłużono się klasycznymi miarami położenia jak średnia arytmetyczna i mediana oraz miarami zmienności jak rozstęp i odchylenie standardowe. Normalność rozkładu

zmiennych i równość wariancji badanej cechy w grupach badano odpowiednio testem W Shapiro-Wilka i testem równości wariancji. Przy porównaniu dwóch grup dla danych nieparametrycznych posłużono się testem U Manna-Whitneya. W analizie porównawczej większej ilości grup dla danych nieparametrycznych wykorzystano test Kruskala-Wallisa wraz z testami porównań wielokrotnych post hoc, jako nieparametryczny odpowiednik ANOVA. Aby ocenić statystyczną istotność różnic danych nieparametrycznych jakościowych zastosowano testy Chi-kwadrat (w zależności od liczebności próbek oraz liczebności oczekiwanych zastosowano oryginalną metodę Person, test z poprawką Yatesa lub dokładny test Fishera). We wszystkich testach statystycznych za poziom statystycznej istotności przyjęto $p < 0,05$.

Ankieta osobowa pozwoliła na dokładne przeprowadzenie wywiadu z pacjentem i uzyskanie porównywalnych danych.

Pacjenci otrzymali kartę informacyjną opisującą cel badania i tłumaczącą ich wkład w badanie. Każdy pacjent wyraził świadomą zgodę pisemną na przeprowadzenie badania.

Badanie uzyskało zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej w Gdańsku.

5. WYNIKI

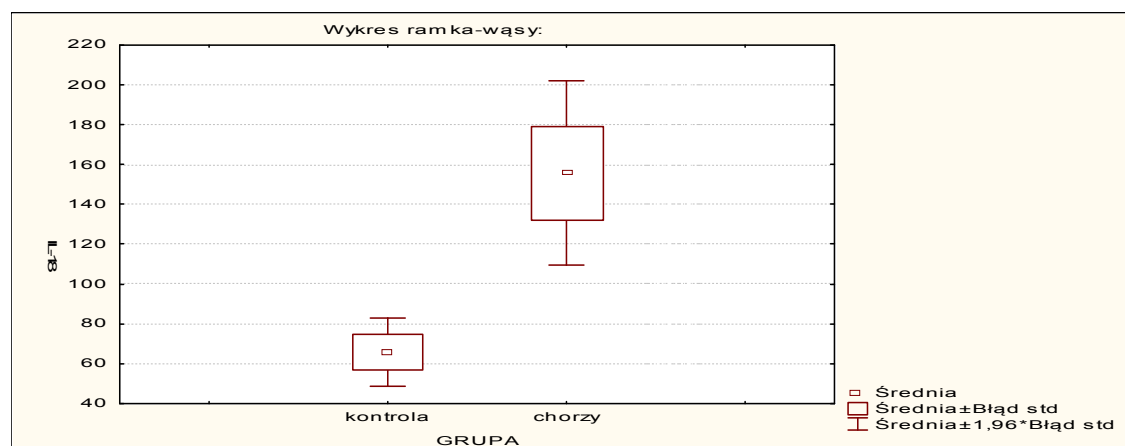
W badanej grupie stosunek mężczyzn do kobiet wyniósł 0,7:1. Dzieci (31) stanowiły 46,2% wśród badanych. Średnia wieku pacjentów to 21,1 lat, a średni wiek wystąpienia choroby to 2,8 lat. Ciężką postać AZS stwierdzono u 28 pacjentów, średnio ciężką u 25 chorych, zaś AZS o lekkim przebiegu u 14 badanych. Średnio SCORAD wyniósł 49,6 (od 11,5 do 85). Zaburzenia snu występowały u połowy pacjentów (52,2%). Ujemne wyniki testu prick stwierdzono u 22 osób (32,8%).

Stężenie IL-18 w surowicy krwi chorych na AZS w stosunku do stężenia IL-18 w surowicy krwi osób z grupy kontrolnej było wyższe na poziomie istotnym statystycznie ($p=0,000262$). (Ryc. nr 25, tab. nr 3.)

Tabela nr 3. Stężenie IL-18 w surowicy krwi chorych na AZS w stosunku do stężenia IL-18 w surowicy osób z grupy kontrolnej. Test U Manna Whitneya.

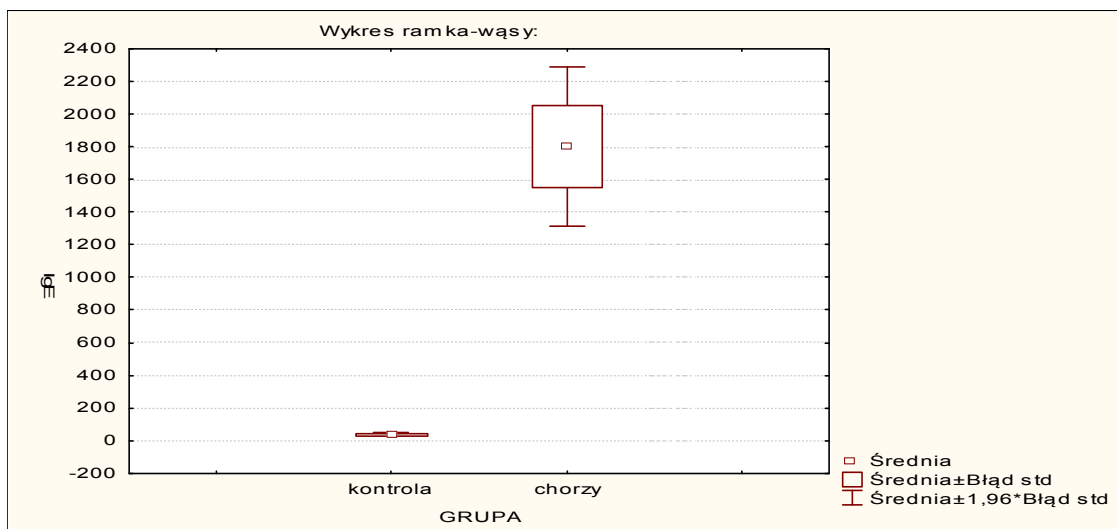
	Średnia kontrola	Średnia chorzy	N kontrola	N ważn. Chorzy	Odch.std. kontrola	Odch.std. chorzy	poziom p
IL-18	65,73160	155,681	50	67	61,66552	192,921	0,000262

Rycina nr 25. Stężenie IL-18 w surowicy krwi chorych na AZS w stosunku do stężenia IL-18 w surowicy osób z grupy kontrolnej



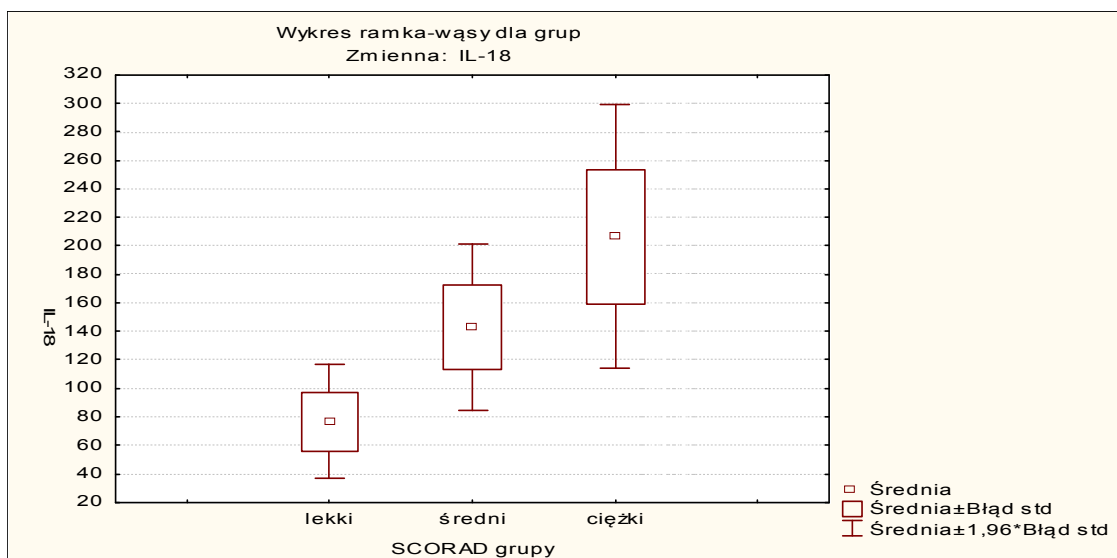
Poziom IgE u pacjentów z AZS (średnio 1801,241) w stosunku do poziomu IgE w grupie kontrolnej (średnio 36,425) był wyższy na poziomie istotnym statystycznie ($p=0,000000$). (Ryc. nr 26).

Rycina nr 26. Poziom IgE w surowicy krwi pacjentów z AZS i w grupie kontrolnej.



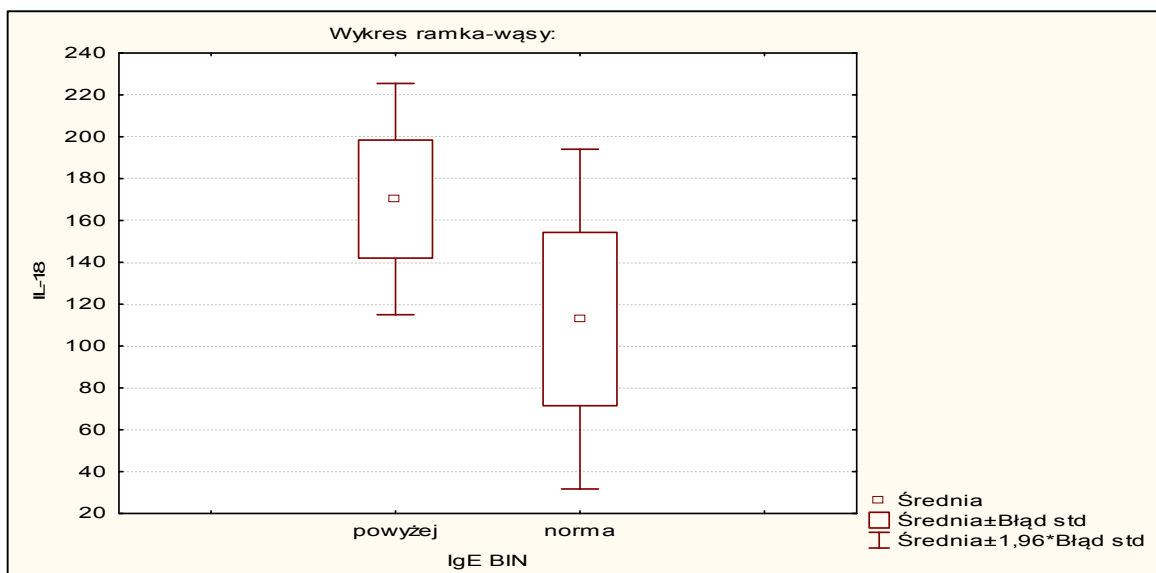
Stężenie IL-18 było statystycznie znacząco wyższe u pacjentów z ciężkim przebiegiem AZS w stosunku do pacjentów z lekkim przebiegiem AZS ($p= 0,033044$). (Ryc. nr 27).

Rycina nr 27. Stężenie IL- 18 w zależności od ciężkości przebiegu AZS.

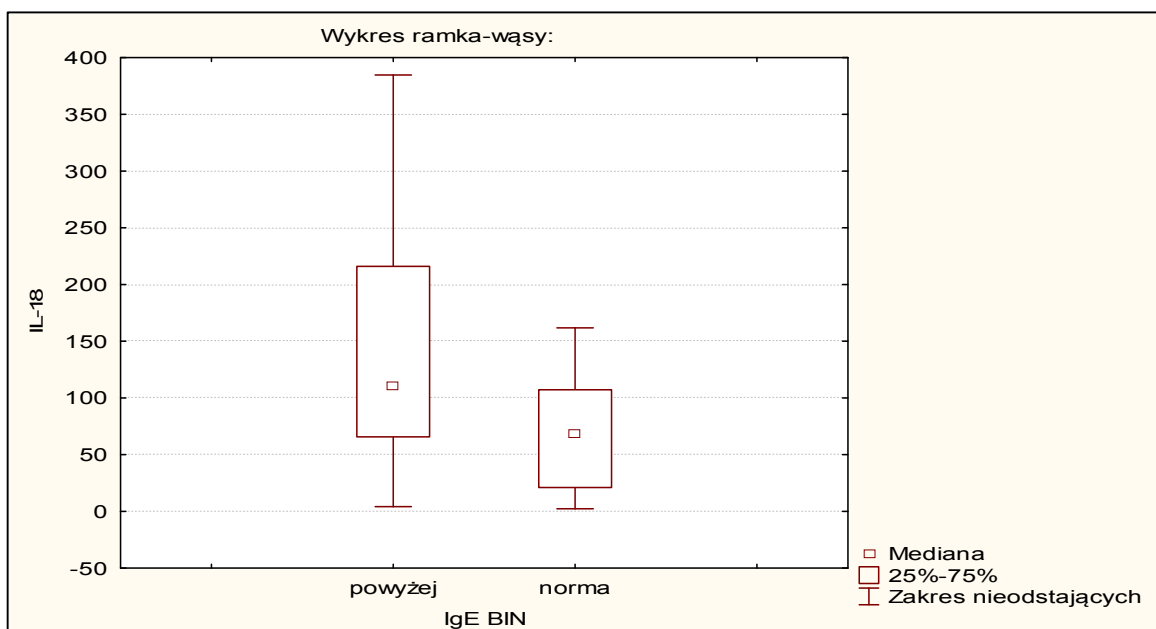


Ponadto, u pacjentów z podwyższonym poziomem IgE w surowicy krwi, poziom IL-18 był statystycznie znamienne wyższy ($p=0,0366$). (Ryc. nr 28 i 29).

Rycina nr 28. Średnie stężenie IL-18 w zależności od poziomu IgE

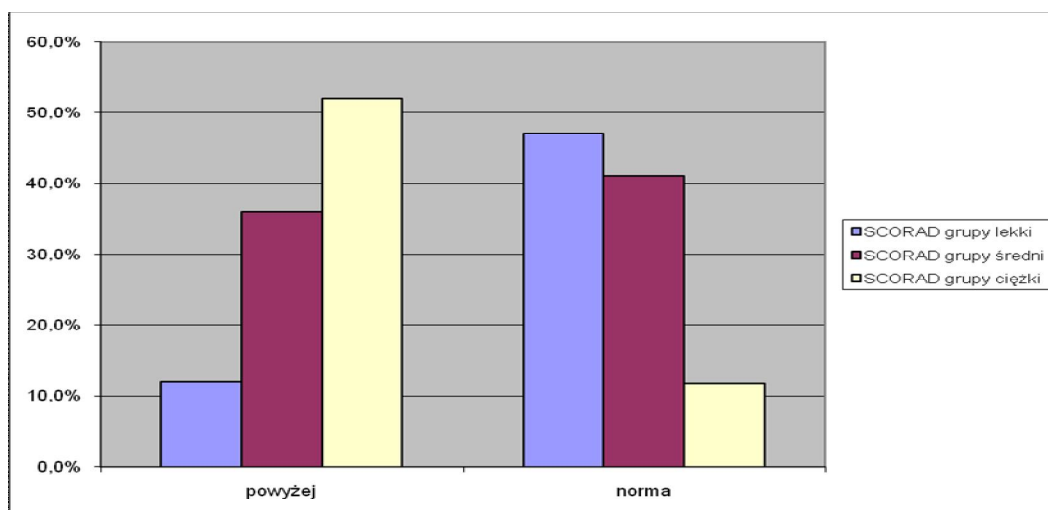


Rycina nr 29. Mediana stężenia IL-18 w zależności od poziomu IgE



U pacjentów z prawidłowym poziomem IgE, AZS miało przebieg głównie łagodny, co obrazuje rycina nr 30.

Rycina nr 30. SCORAD u pacjentów z podwyższonym poziomem IgE i pacjentów z prawidłowym poziomem IgE.



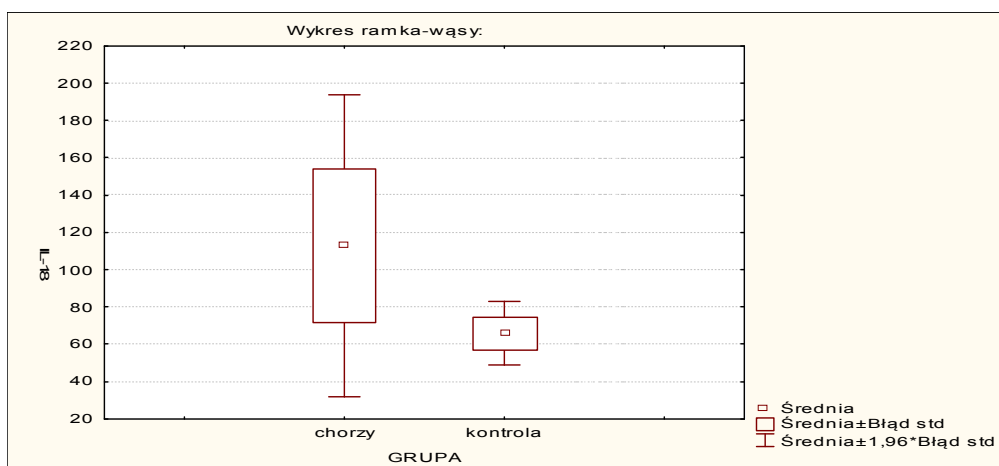
Średni wynik punktacji SCORAD w grupie pacjentów z prawidłowym poziomem IgE wyniósł 33, natomiast stężenie IL-18 w tej grupie było prawie dwukrotnie podwyższone (112pg/ml) w stosunku do grupy kontrolnej (65,73 pg/ml). (Tab. nr 4).

Tabela nr 4. Stężenie IL-18 u chorych na AZS z prawidłowym poziomem IgE w porównaniu do osób grupy kontrolnej.

	Średnia chorzy	Średnia kontrola	N chorzy	ważn. Kontrola	N chorzy	ważn. kontrola	Odch.std. chorzy	Odch.std. kontrola	poziom p
IL-18 Pg/ml	112,8882	65,73160	17	50	170,7519	61,66552	0,462433		

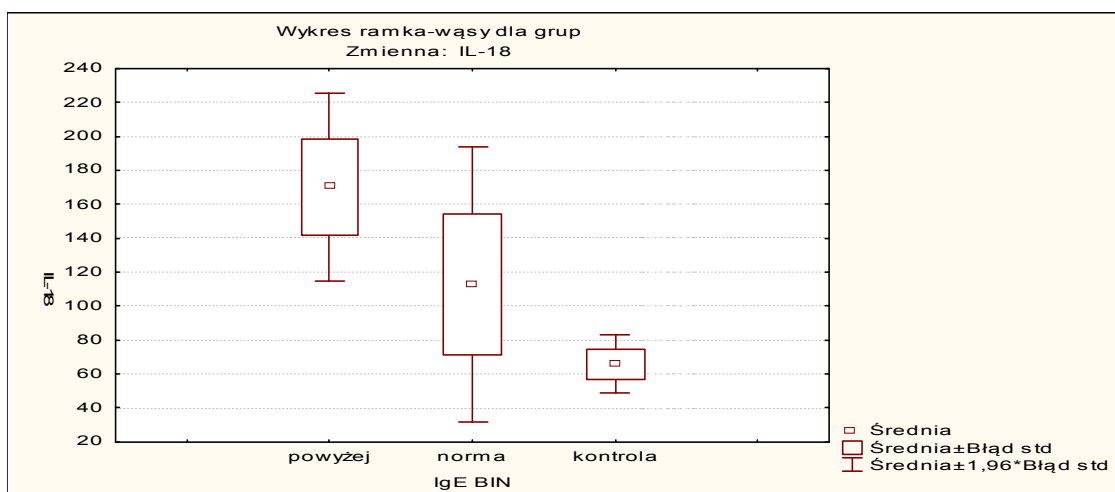
Wynika z tego, że przy prawidłowym poziomie IgE, u pacjentów z objawami AZS, obserwowaliśmy podwyższone stężenie IL-18. Jednak obserwowane podwyższone stężenie IL-18 w grupie pacjentów z prawidłowym IgE nie miało znaczenia statystycznego ($p=0,46$). (Ryc. nr 31).

Rycina nr 31. Stężenie IL-18 w grupie pacjentów z prawidłowym IgE.



Zatem stężenie IL-18 (170,23 pg/ml) u pacjentów z podwyższonym poziomem IgE było statystycznie znamienne wyższe ($p=0,000085$) w stosunku do stężenia IL-18 (65,73pg/ml) w grupie kontrolnej. (Ryc. nr 32).

Rycina nr 32. Stężenia IL18 u pacjentów z podwyższonym i prawidłowym poziomem IgE oraz w grupie kontrolnej.

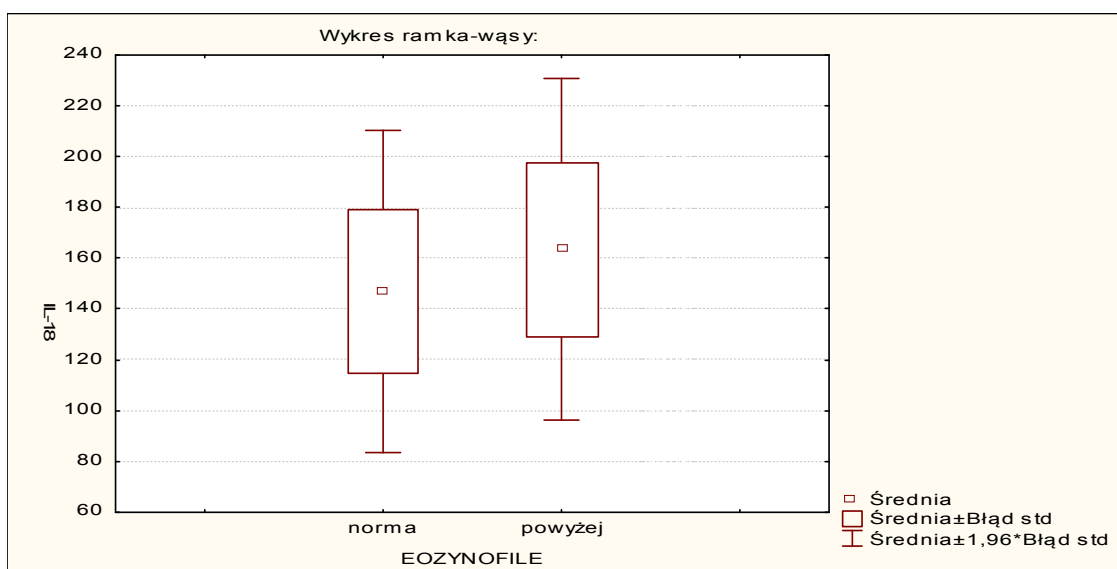


Na podstawie uzyskanych wyników nie znaleziono zależności między stężeniem IL-18 w surowicy krwi chorych na AZS a eozynofilią ($p=0,332912$). (Tab. nr 5 i ryc. nr 33).

Tabela nr 5. Brak zależności między stężeniem IL-18 a eozynofilią u chorych z AZS.

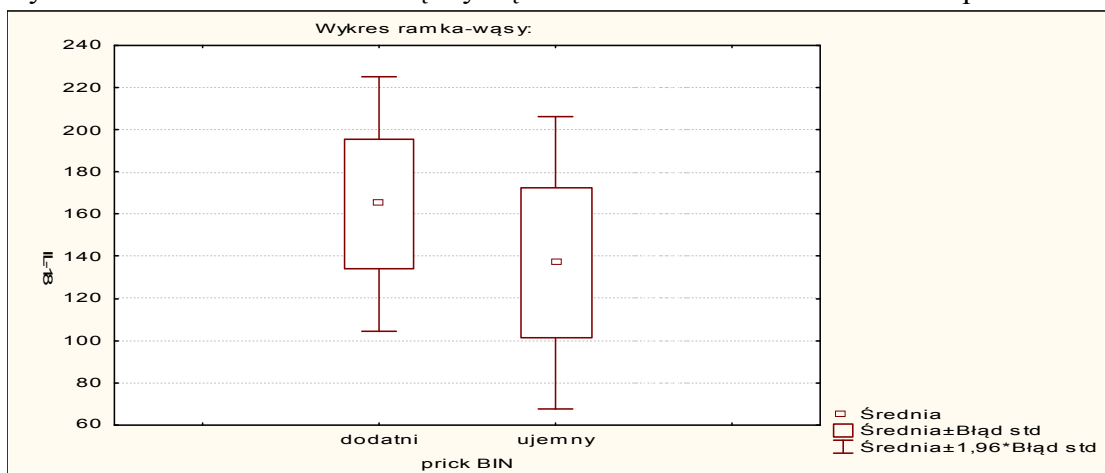
	Średnia norma	Średnia powyżej	N ważn. Norma	N ważn. powyżej	Odch.std. norma	Odch.std. powyżej	poziom p
IL-18	146,7571	163,365	31	36	179,9051	205,694	0,332912

Rycina nr 33. Brak zależności między stężeniem IL-18 a eozynofilią u chorych z AZS.

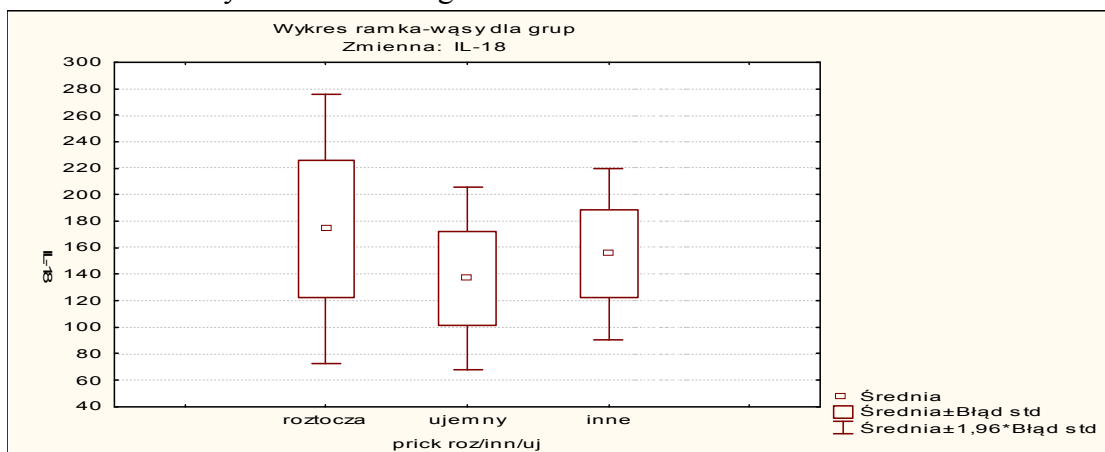


U chorych z AZS nie wykazano związku między stężeniem IL-18 a dodatnimi testami prick ($p=0,36343$) (Ryc. nr 34), nadwrażliwością specyficzną na pyłki trawy ($p=0,7$) (Ryc. nr 35), ani na roztocza kurzu domowego ($p=0,57$) (Ryc. nr 36).

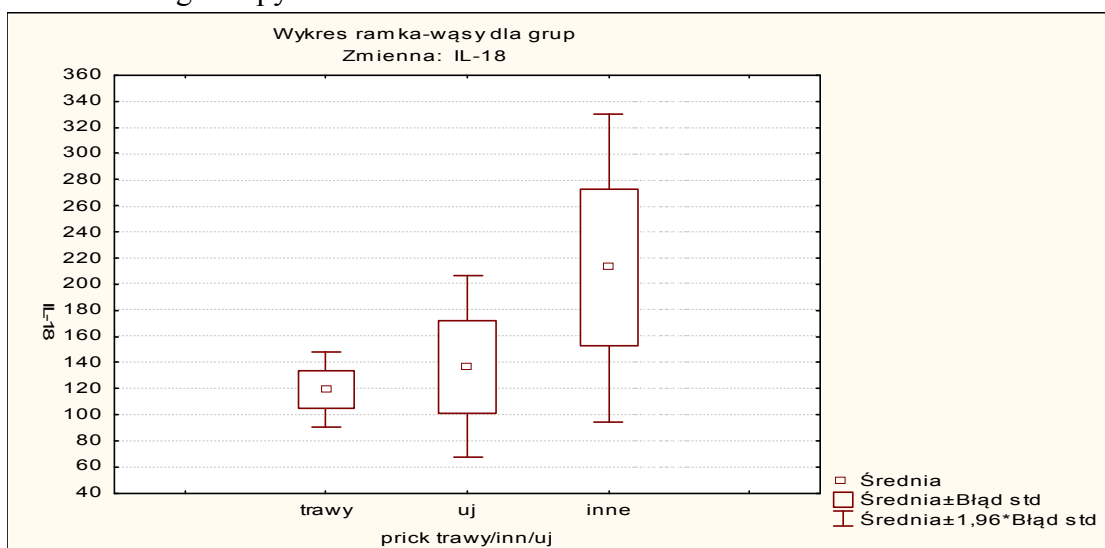
Rycia nr 34. Brak zależności między stężeniem IL-18 a dodatnimi testami prick.



Rycina nr 35. Brak zależności między stężeniem IL-18 a dodatnimi testami prick w kierunku roztoczy kurzu domowego.



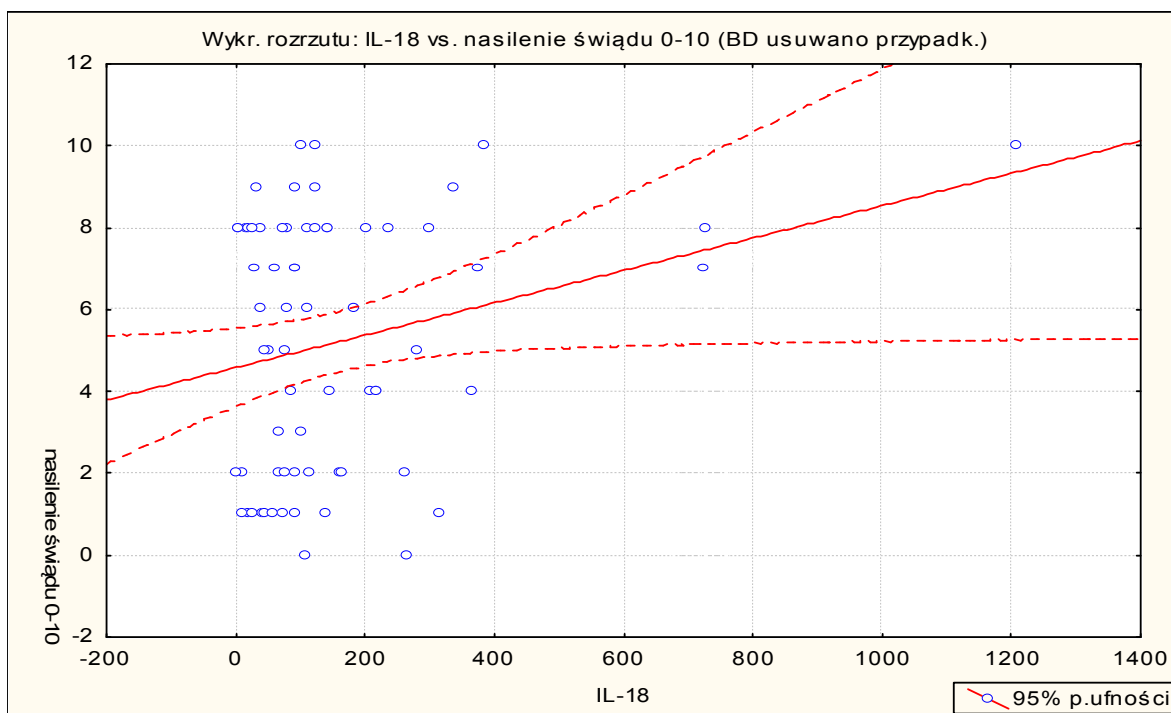
Rycina nr 36. Brak zależności między stężeniem IL-18 a dodatnimi testami prick w kierunku alergii na pyłki traw.



Nie znaleziono zależności pomiędzy stężeniem IL-18, a wiekiem chorego ($p=0,36$), wiekiem wystąpienia AZS ($p=0,27$), płcią ($p=0,8$), zaburzeniami snu ($p=0,1$).

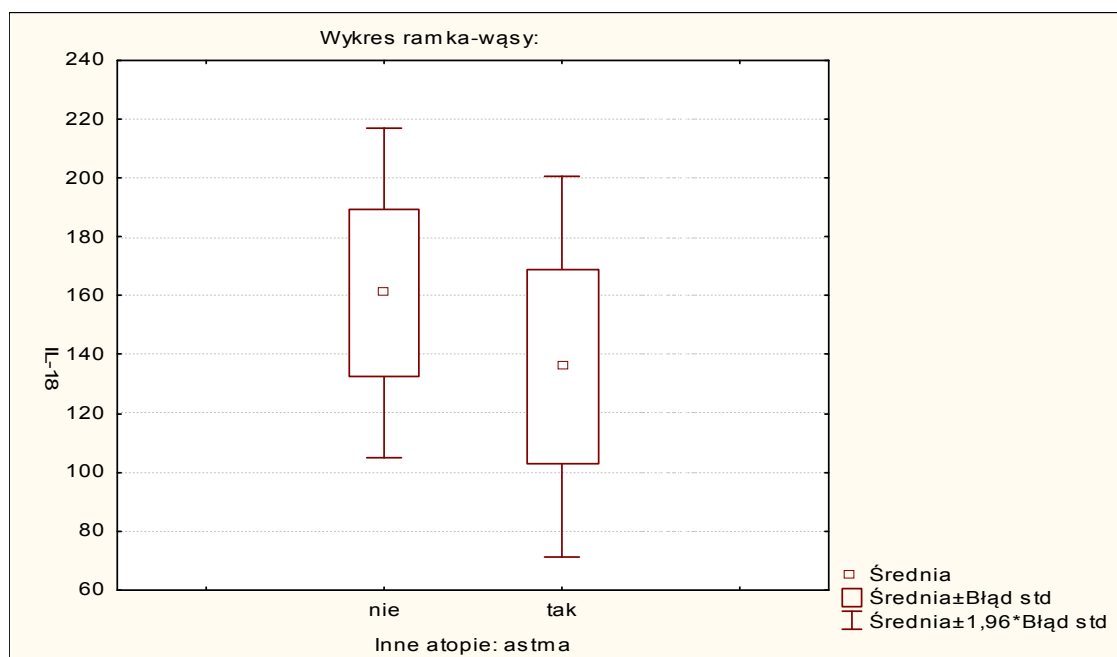
Brak korelacji pomiędzy stężeniem IL-18 a nasileniem świądu ilustruje rycina nr 37.

Rycina nr 37. Stężenie IL-18 a nasilenie świądu → $p=0,211558$

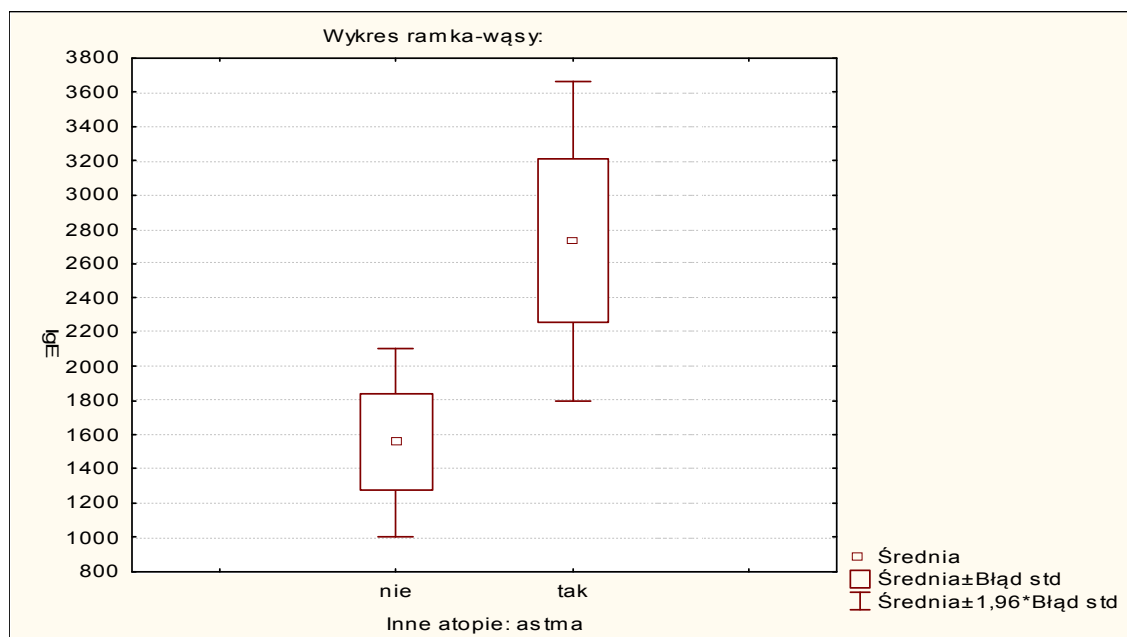


Nie wykazano różnic między stężeniem IL-18 u pacjentów chorujących na AZS i pacjentów chorujących na AZS i astmę ($p=0,853181$). (Ryc. nr 38). Natomiast różnice takie na poziomie znamionym statystycznie obserwowano dla poziomu IgE ($p=0,010941$). (Ryc. nr 39).

Rycina nr 38. Stężenie IL-18 u pacjentów z AZS w stosunku do stężenia IL-18 u pacjentów z AZS i astmą.

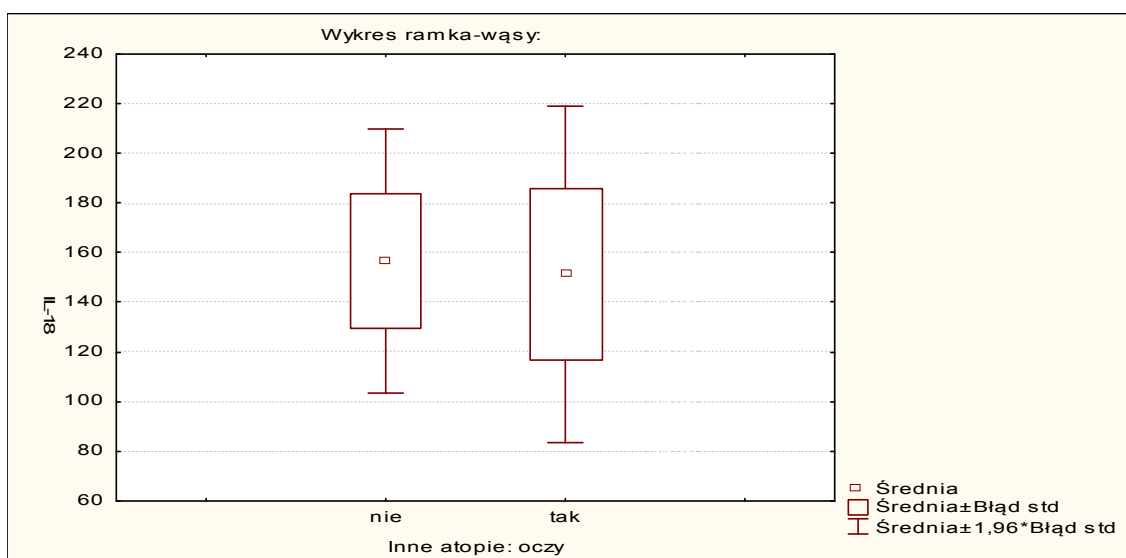


Rycina nr 39. Stężenie IgE u pacjentów z AZS w stosunku do stężenia IgE u pacjentów z AZS i astmą.

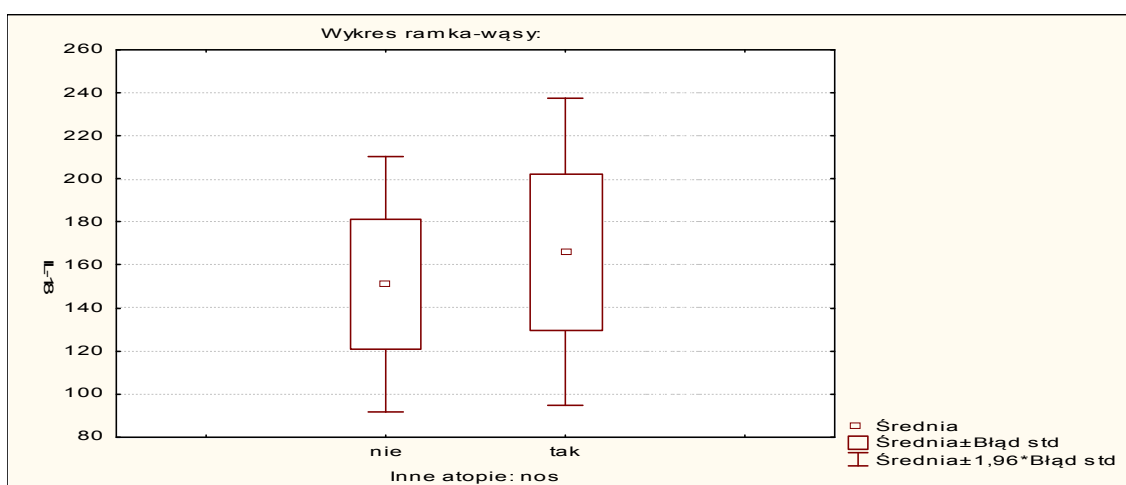


Wyniki badania nie ujawniły różnic istotnych statystycznie w stężeniu IL-18 u pacjentów z AZS w porównaniu do pacjentów z AZS i współistniejącym alergicznym zapaleniem spojówek ($p=0,388593$) (Ryc. nr 40), czy alergicznym nieżytem nosa ($p=0,543043$) (Ryc. nr 41).

Rycina nr 40. Brak różnic między stężeniem IL-18 u pacjentów z AZS a stężeniem IL-18 u pacjentów z AZS i alergicznym zapaleniem spojówek.



Rycina nr 41. Brak różnic między stężeniem IL-18 u pacjentów z AZS a stężeniem IL-18 u pacjentów z AZS i alergicznym nieżytem nosa.



Poziom IgE w surowicy krwi pacjentów z AZS, u których współistniały inne choroby kręgu atopii (astma, alergiczny nieżyt nosa, alergiczne zapalenie spojówek) był statystycznie znacząco wyższy w porównaniu do poziomu IgE u pacjentów z AZS bez współistniejących ww chorób atopowych. (Tab. nr 6 i 7; Ryc. nr 42 i 43).

Tabela nr 6. Stężenie IgE u pacjentów z AZS i pacjentów z AZS i współistniejącym alergicznym zapaleniem spojówek.

	Średnia	Średnia	N ważn.	N ważn.	Odch.std.	Odch.std.	poziom p
	nie	tak	nie	Tak	nie	tak	
IgE	1577,4409	3076,900	57	10	1909,5527	2369,385	0,037065

Rycina nr 42. Stężenie IgE u pacjentów z AZS w porównaniu do poziomu IgE u pacjentów z AZS i współistniejącym alergicznym zapaleniem spojówek.

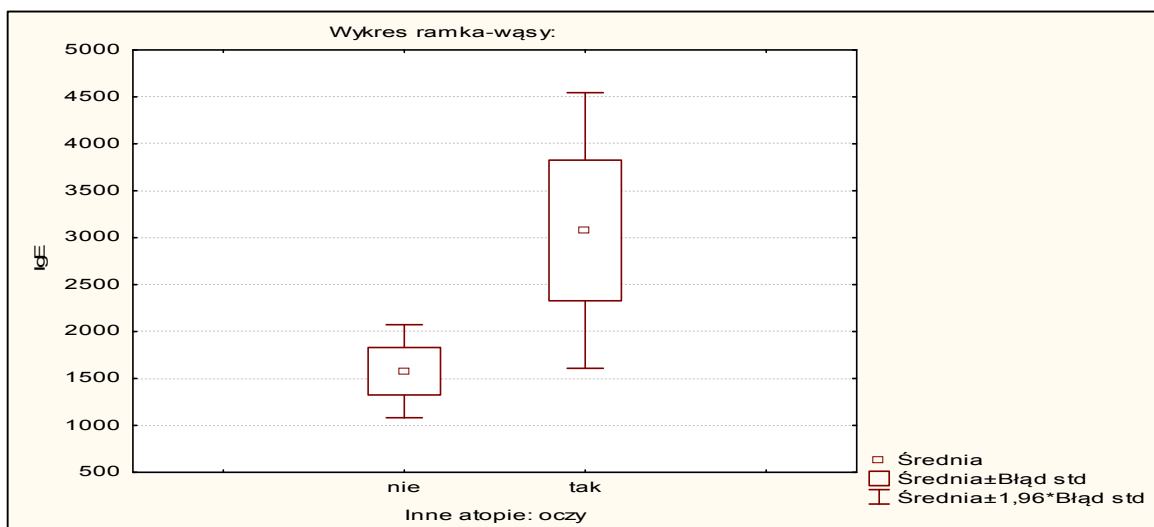
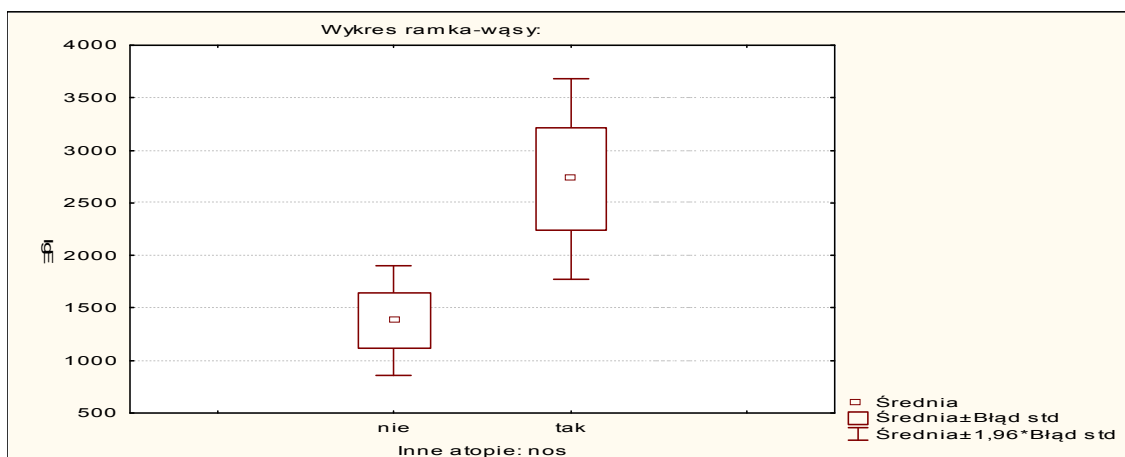


Tabela nr 7. Poziom IgE u pacjentów z AZS w porównaniu do poziomu IgE u pacjentów z AZS i alergicznym nieżytem nosa.

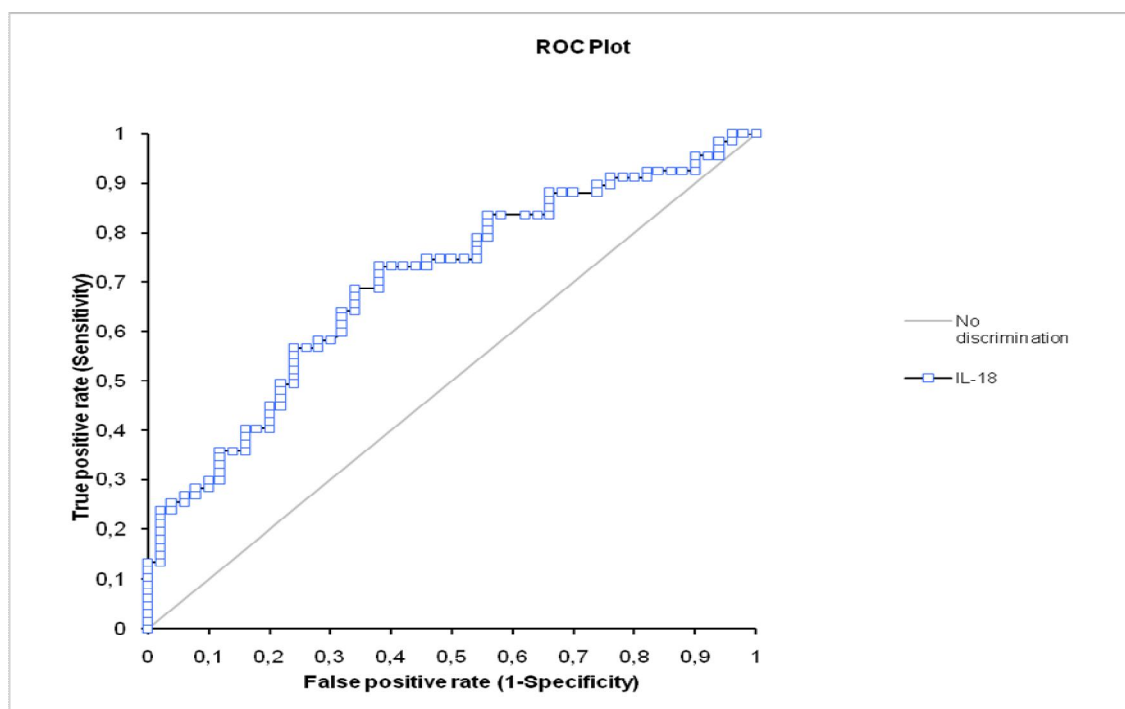
	Średnia	Średnia	N ważn.	N ważn.	Odch.std.	Odch.std.	poziom p
	nie	tak	nie	Tak	nie	tak	
IgE	1378,4463	2727,362	46	21	1815,5320	2228,119	0,040593

Rycina nr 43. Poziom IgE u pacjentów z AZS w stosunku do poziomu IgE u pacjentów z AZS i alergicznym nieżytem nosa.



Wykres przeprowadzonej analizy wartości dyskryminacyjnych modelu z użyciem krzywej charakterystyki skuteczności percepcji ROC (Receiver Operating Characteristics) przedstawia rycina nr 44.

Rycina nr 44. ROC dla IL-18.



W podsumowaniach nieparametrycznych znamienne statystycznie znaczenie miały korelacje poziomu IgE z eozynofilią, ciężkością przebiegu AZS, nasileniem świądu, zaburzeniami snu oraz z płcią. (Tab. nr 8).

Tabela nr 8.

	R Spearman	poziom p
IgE & SCORAD	0,632080	0,000000
IgE & EOZYNOFILE %	0,736860	0,000000
IgE & WIEK	0,114452	0,356405
IgE & Wiek wystąpienia	0,193922	0,115854
IgE & zaburzenia snu skala 0-10	0,449198	0,000137
IgE & nasilenie świądu 0-10	0,598072	0,000000
IgE & płeć	MĘŻCZYŹNI	0,001271

Korelacje pomiędzy: 1. SCORAD a poziomem IgE, eozynofilią, zaburzeniami snu i nasileniem świądu u chorych z AZS, 2. Zaburzeniami snu a poziomem IgE, skalą SCORAD, eozynofilią i nasileniem świądu oraz 3. Nasileniem świądu a poziomem IgE, skalą SCORAD, eozynofilią i zaburzeniami snu o znaczeniu istotnym statystycznie przedstawia tabela nr 9.

Tabela nr 9.

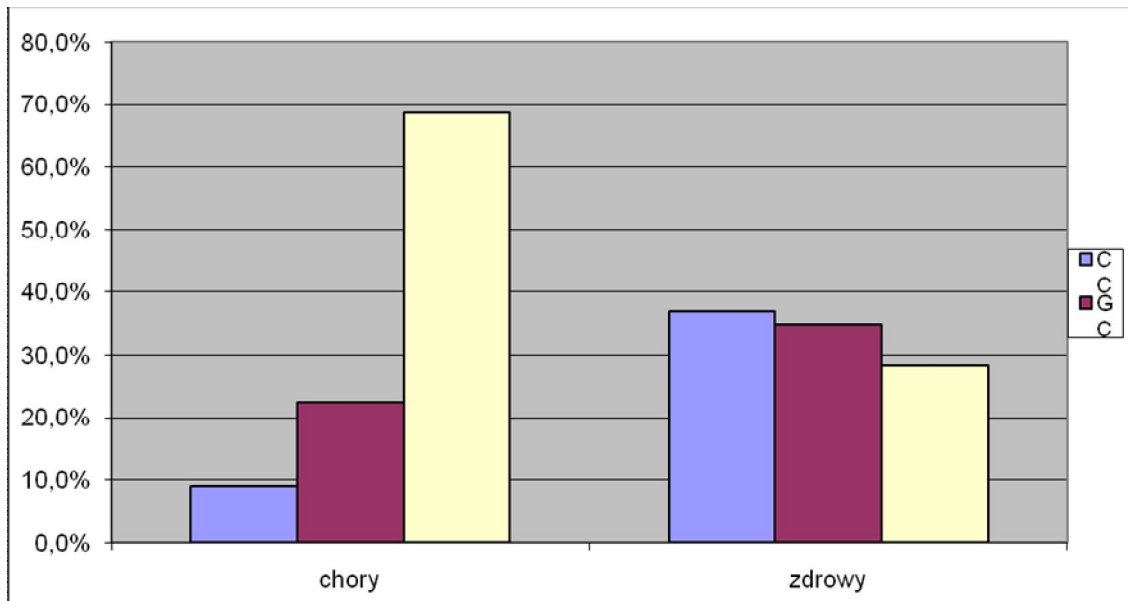
	R Spearman	poziom p
SCORAD & IgE	0,632080	0,000000
SCORAD & EOZYNOFILE %	0,634956	0,000000

SCORAD & zaburzenia snu skala 0-10	0,542314	0,000002
SCORAD & nasilenie świądu 0-10	0,792507	0,000000
zaburzenia snu skala 0-10 & IgE	0,449198	0,000137
zaburzenia snu skala 0-10 & SCORAD	0,542314	0,000002
zaburzenia snu skala 0-10 & EOZYNOFILE %	0,452139	0,000123
zaburzenia snu skala 0-10 & nasilenie świądu 0-10	0,636321	0,000000
nasilenie świądu 0-10 & IgE	0,598072	0,000000
nasilenie świądu 0-10 & SCORAD	0,792507	0,000000
nasilenie świądu 0-10 & EOZYNOFILE %	0,572028	0,000000
nasilenie świądu 0-10 & zaburzenia snu skala 0-10	0,636321	0,000000

Z uwagi na znacząco podwyższony poziom IL-18 u pacjentów z AZS i jego związek z ciężkością przebiegu choroby, postanowiono wstępnie zbadać związek polimorfizmu genu IL-18 -137 G/C z AZS i jego charakterystycznymi cechami.

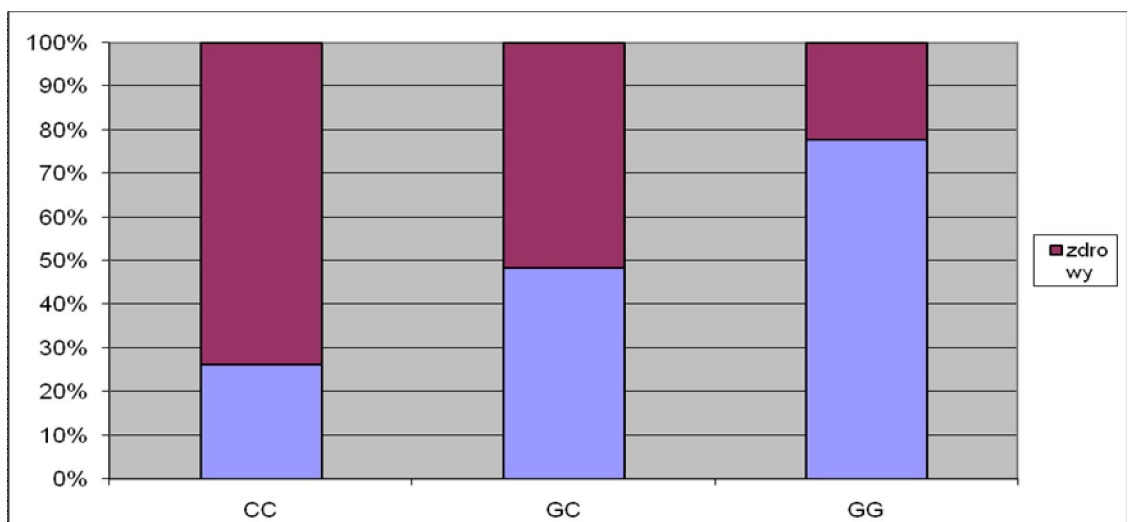
Wśród osób chorych na AZS, genotyp C/C stwierdzono w 9 % przypadków, G/C w 22,4% przypadków, a G/G, który zdecydowanie przeważał, w 68,7 % przypadków. W grupie osób zdrowych genotyp C/C stwierdzono u 37% badanych, genotyp G/C u 34,8%, a genotyp G/G u 28,3%. [Test χ^2 ($p=0,0003$)]. Dane te graficznie przedstawia rycina nr 45.

Rycina nr 45. Genotyp G/G (biały), G/C (różowy), C/C (niebieski) w grupie chorych z AZS i osób zdrowych (grupa kontrolna)



Wśród osób z genotypem C/C u 26,1% rozpoznano AZS (73,9% stanowiły osoby zdrowe), wśród osób z genotypem G/C u 48,4% rozpoznano AZS (51,6% stanowiły osoby zdrowe), a wśród osób z genotypem G/G aż u 78% rozpoznano AZS (22% stanowiły osoby zdrowe). Dane te obrazuje rycina nr 46.

Rycina nr 46. Procentowy udział osób zdrowych i chorych w 3 grupach poszczególnych genotypów IL-18.



Podsumowanie rozkładu genotypów C/C, G/G, G/C przedstawia tabela nr 10.

Tabela nr 10.

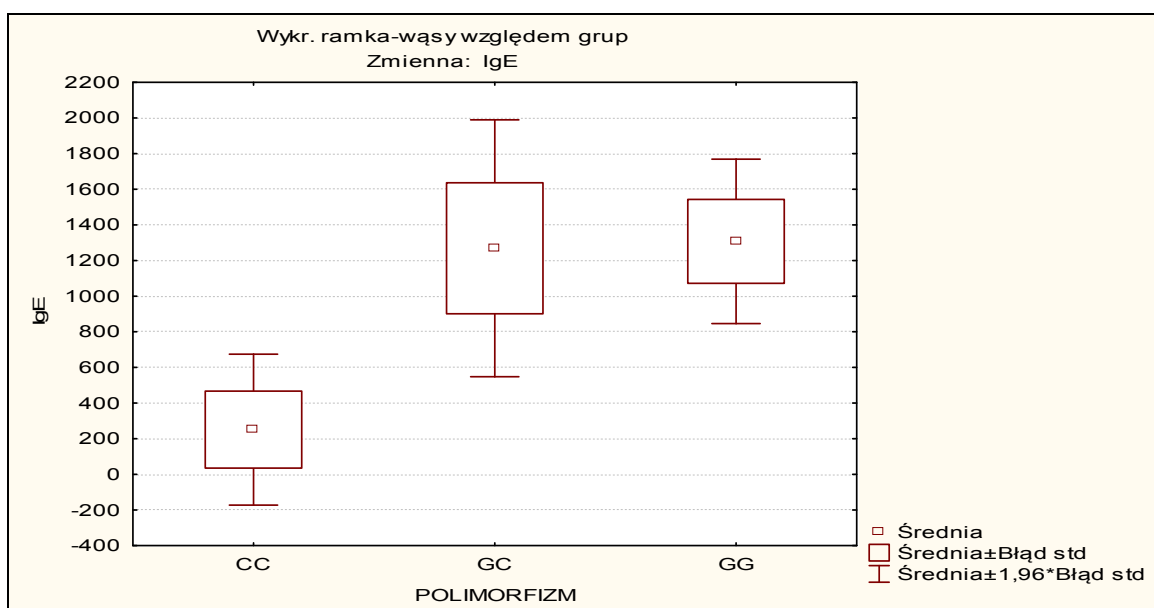
	C/C	G/C	G/G	Razem
chory	6	15	46	67
% z kołu	26,1%	48,4%	78,0%	
zdrowy	17	16	13	46
% z kołu	73,9%	51,6%	22,0%	
Ogół	23	31	59	113

Uzyskane wyniki wskazują, że pojawienie się allela G ma znamieny statystycznie wpływ na podwyższenie poziomu IgE w surowicy krwi badanych osób, co przedstawia tabela nr 11 i rycina nr 47. (W tabeli wyniki przedstawiają wartości p porównań wielokrotnych w teście post-hoc)

Tabela nr 11. Statystycznie znamieny wpływ allela G na poziom IgE w surowicy krwi badanych osób.

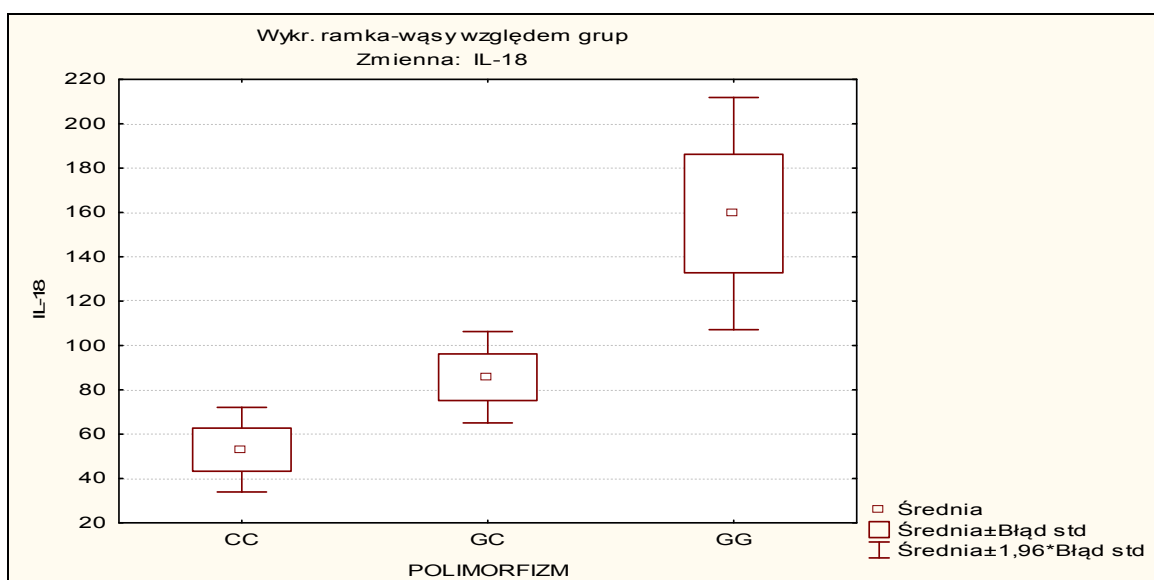
	CC	GC	GG
CC		0,008381	0,000030
GC	0,008381		0,711218
GG	0,000030	0,711218	

Rycina nr 47. Wpływ allela G na poziom IgE w surowicy krwi badanych.



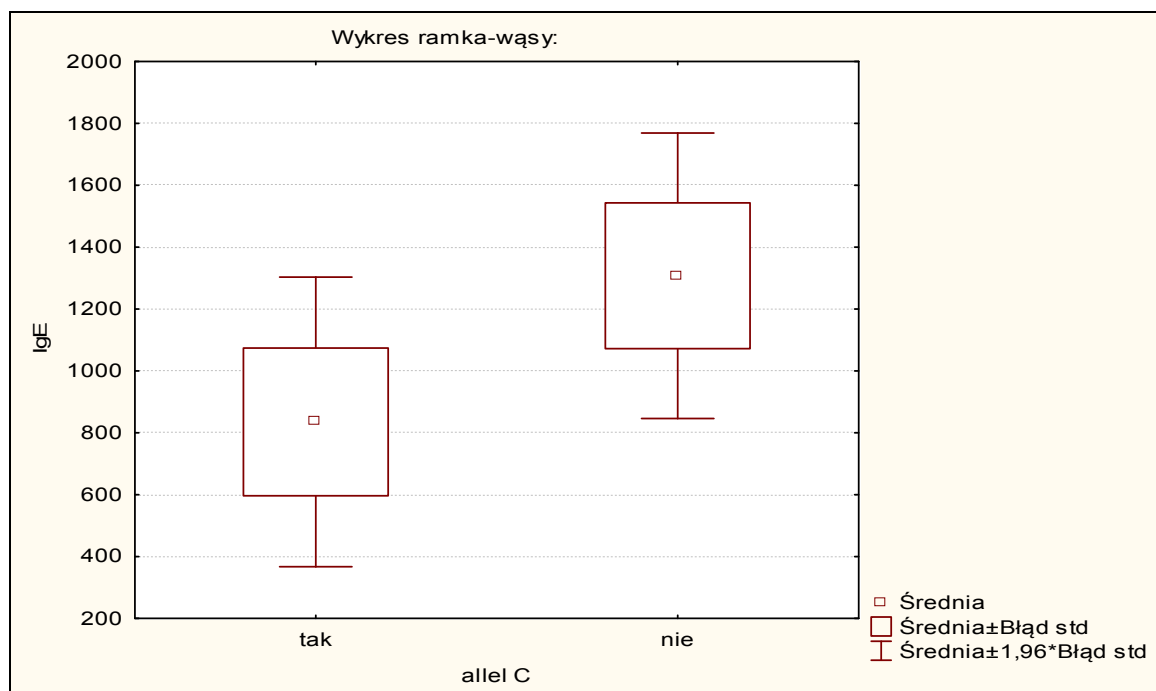
Osoby będące homozygotami G/G miały statystycznie **znamiennie wyższe** stężenia IL-18 ($p=0,0049$) niż homozygoty CC i heterozygoty GC. (Ryc. nr 48).

Rycina nr 48. Stężenie IL-18 wśród homozygot G/G

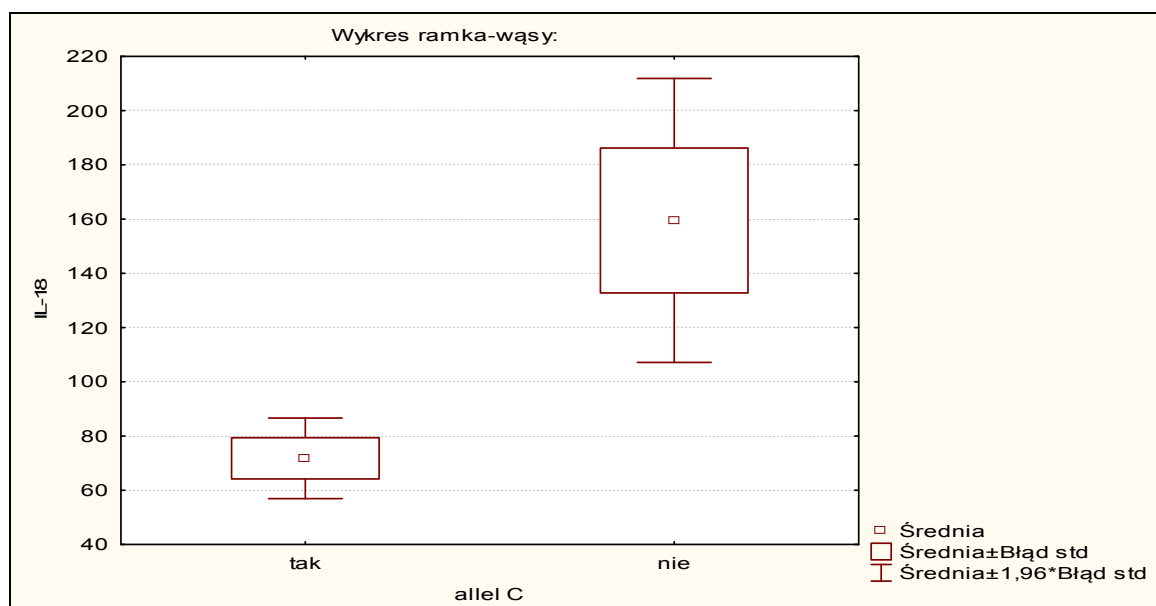


Osoby z allelem C wykazywały statystycznie znacznie niższe wartości poziomu IgE ($p=0,001131$) i IL-18 ($p=0,011249$) w surowicy krwi. (Ryc. nr 49; Ryc. nr 50).

Rycina nr 49. Wpływ allela C na stężenie IgE w surowicy badanych osób.

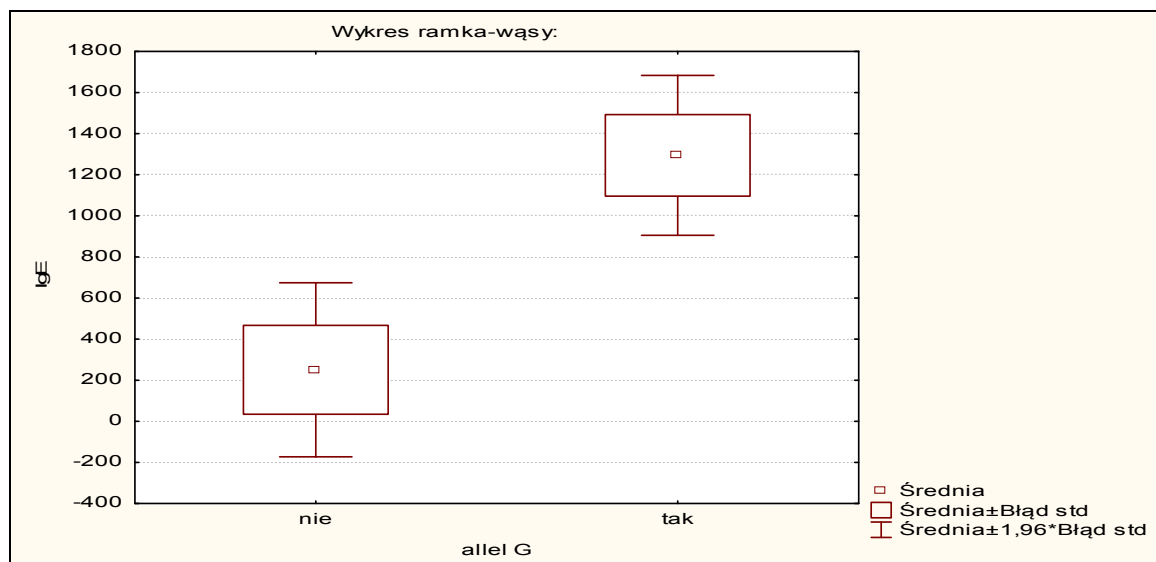


Rycina nr 50. Wpływ allela C na stężenie IL-18 w surowicy krwi badanych osób.

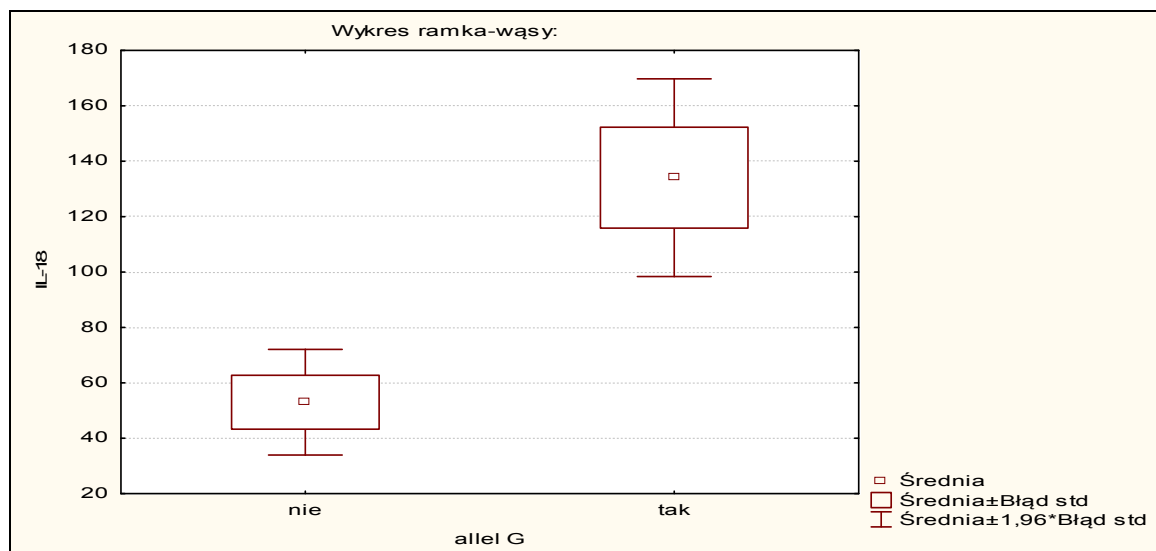


Osoby z allelem G miały statystycznie znacznie podwyższony poziom IgE ($p=0,000020$) i IL-18 ($p=0,003419$) w porównaniu do osób, które tego allela nie posiadały. (Ryc. nr 51; Ryc. nr 52).

Rycina nr 51. Wpływ allela G na poziom IgE w surowicy krwi badanych osób.



Rycina nr 52. Wpływ allela G na stężenie IL-18 w surowicy krwi badanych osób.



Allel G był znamienne statystycznie częstszy u chorych z AZS niż w grupie kontrolnej osób zdrowych ($p=0,00069$ test χ^2). (Tab. nr 12).

Tabela nr 12. Rozkład allela G wśród osób chorych z AZS i zdrowych

	allel G Nie	allel G Tak	Wiersz Razem
Chory	6	61	67
% z kolu	26,1%	67,8%	
% z Wier	9,0%	91,0%	
zdrowy	17	29	46
% z kolu	73,9%	32,2%	
% z Wier	37,0%	63,0%	
Ogół	23	90	113

Z kolei, allel C dominował na poziomie istotnym statystycznie w grupie zdrowych w stosunku do chorych z AZS ($p=0,00002$ test χ^2). (Tab. nr 13).

Tabela nr 13. Rozkład allela C u osób chorych z AZS i zdrowych.

	allel C Tak	allel C nie	Wiersz Razem
Chory	21	46	67
% z kolu	38,9%	78,0%	
% z Wier	31,3%	68,7%	
Zdrowy	33	13	46
% z kolu	61,1%	22,0%	
% z Wier	71,7%	28,3%	
Ogół	54	59	113

Podsumowanie dwóch ostatnich wyników przedstawia tabela nr 14 ($p=,00072$).

Tabela nr 14. Rozkład allele G i C wśród osób chorych z AZS i osób zdrowych.

	POJ. ALLEL C	POJ. ALLEL G	Wiersz Razem
chory	36	61	97
% z wier	37,1%	62,9%	
zdrowy	49	29	78
% z wier	62,8%	37,2%	
Ogół	85	90	175

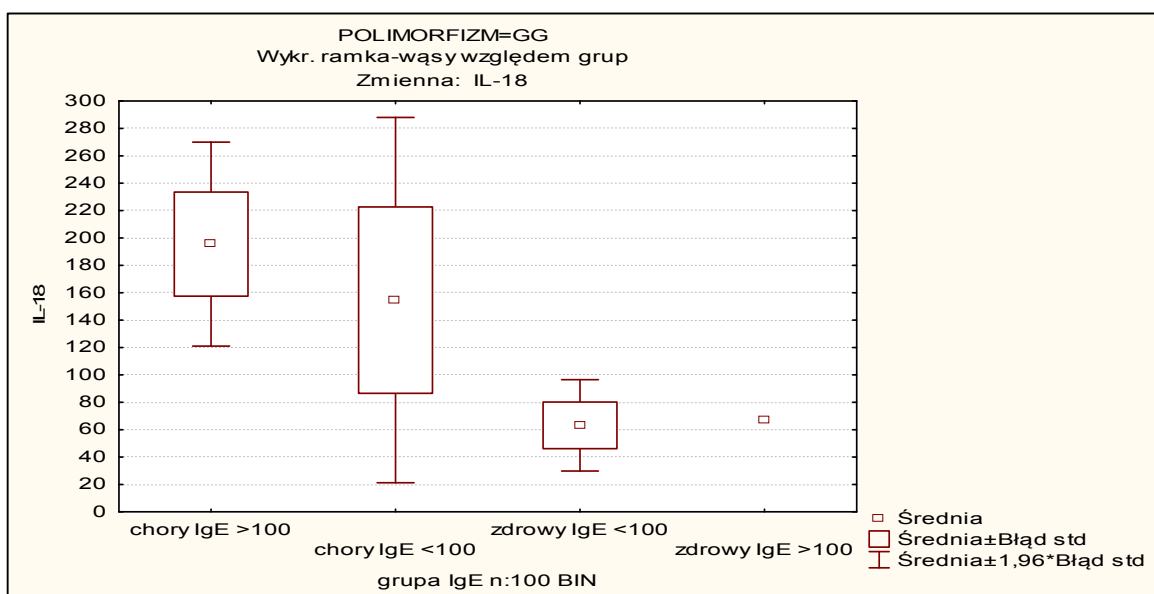
W grupie chorych z AZS w porównaniu do grupy kontrolnej osób zdrowych przeważały homozygoty G/G ($p=0,00004$ test χ^2). (Tab. nr 15).

Tabela nr 15. Występowanie homozygot G/G i C/C w grupie osób chorych i zdrowych.

	TYLKO HOMOZYGOTY C	TYLKO HOMOZYGOTY G	Wiersz Razem
Chory	6	46	52
% z Wier	11,5%	88,5%	
Zdrowy	17	13	30
% z Wier	56,7%	43,3%	
Ogół	23	59	82

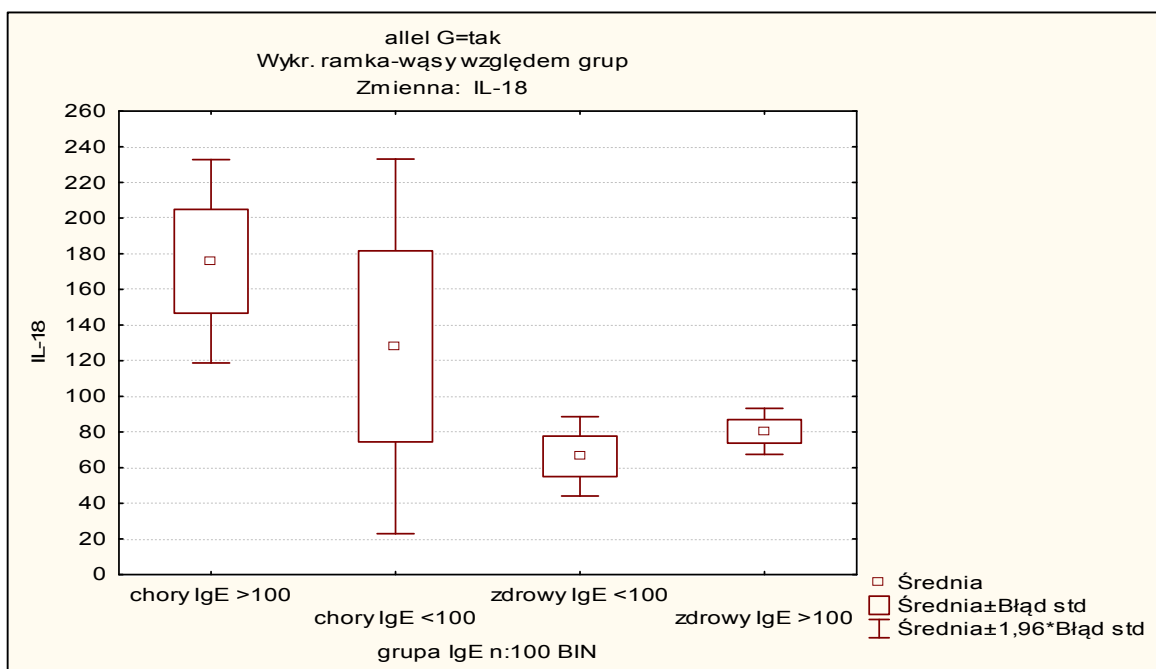
Badania wszystkich osób z genotypem G/G wykazały statystycznie zmienną różnicę w stężeniu IL-18 u pacjentów z podwyższonym poziomem IgE w stosunku do osób zdrowych grupy kontrolnej z IgE poniżej 100 ($p=0,046$). Nie wykazano takich różnic na poziomie istotności statystycznej u chorych z AZS z niskim poziomem IgE. Rycina nr 53 przedstawia wpływ genotypu G/G na poziom IL-18 u pacjentów z podwyższonym IgE w porównaniu do poziomu IL-18 u zdrowych osób z grupy kontrolnej.

Rycina nr 53. Wpływ genotypu G/G na poziom IL-18 u chorych z AZS z podwyższonym IgE w porównaniu do poziomu IL-18 w surowicy krwi osób zdrowych grupy kontrolnej.

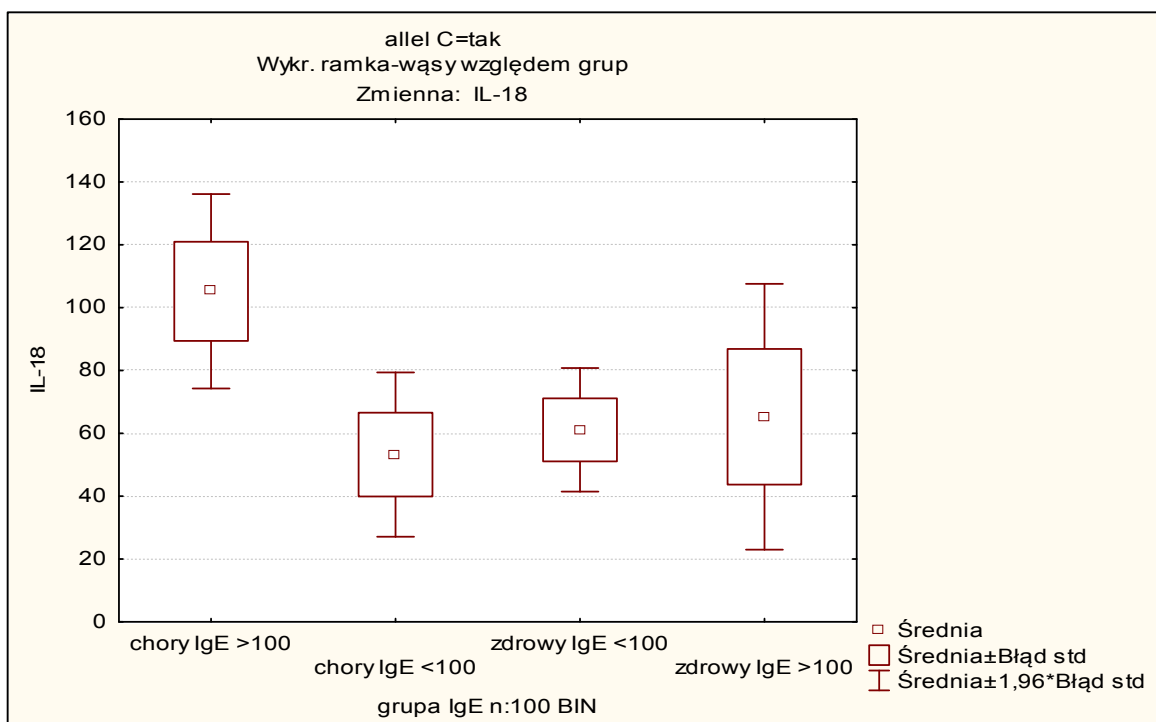


Dla genotypu G/C ($p=0,09$) i C/C ($p=1,0$) nie znaleziono takiej zależności odnośnie poziomu IL-18, ale co ciekawe, zarówno dla allela G ($p=0,002$), jak i allela C ($p=0,041$) wykazano statystycznie zmienną różnicę w poziomie IL-18 w surowicy krwi chorych z AZS z podwyższonym poziomem IgE w porównaniu do osób zdrowych grupy kontrolnej. (Ryc. nr 54; Ryc. nr 55).

Rycina nr 54. Wpływ allele G na stężenie IL-18 u pacjentów z podwyższonym IgE wobec kontroli



Rycina nr 55. Wpływ allele C na stężenie IL-18 u chorych z AZS z podwyższonym poziomem IgE w porównaniu do poziomu IL-18 w surowicy krwi zdrowych osób z grupy kontrolnej .

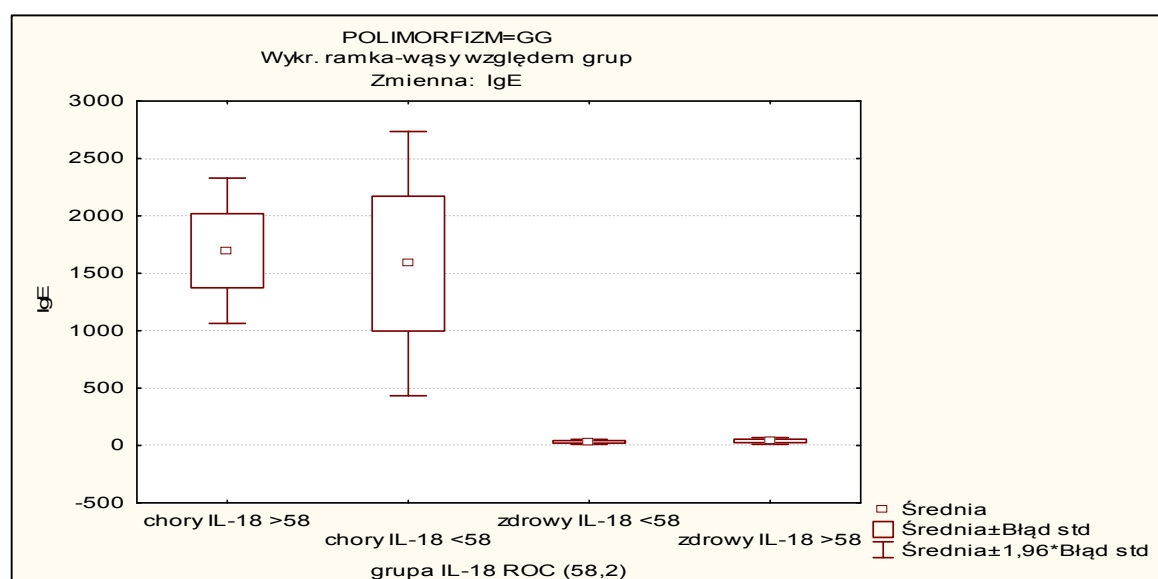


W grupie badanych osób z genotypem G/G poziom IgE w surowicy krwi chorych z AZS z poziomem IL-18 powyżej wartości ROC=58pg/ml, było statystycznie znacznie wyższe w porównaniu do poziomu IgE w surowicy zdrowych osób grupy kontrolnej. (Tab. nr 16; Ryc. nr 56).

Tabela nr 16. Znamienne podwyższony poziom IgE u chorych z AZS z poziomem IL-18 powyżej wartości ROC w porównaniu do poziomu IgE w surowicy krwi zdrowych osób grupy kontrolnej.

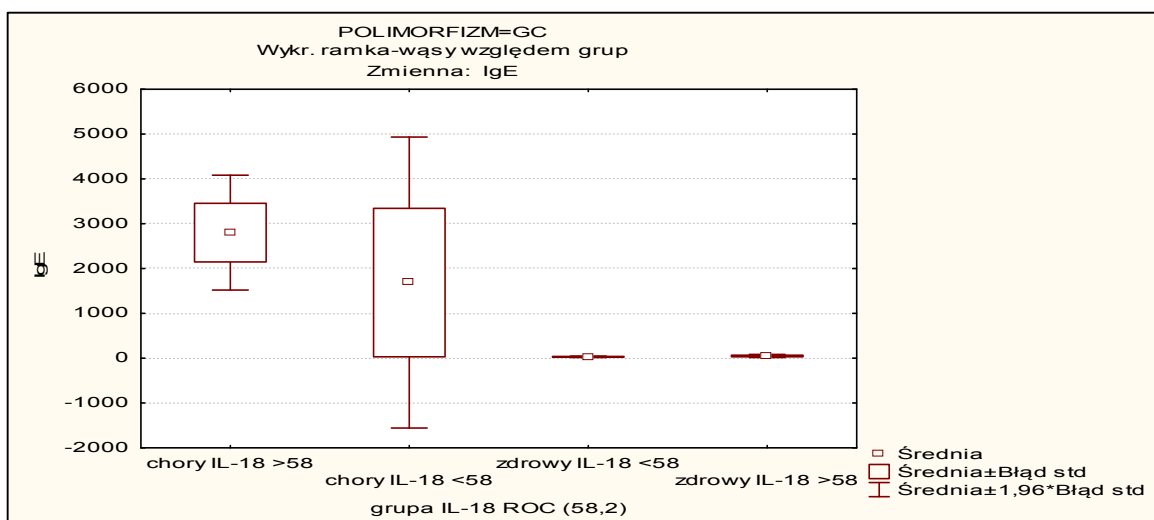
	chory IL-18 >58	chory IL-18 <58	zdrowy IL-18 <58	zdrowy IL-18 >58
chory IL-18 >58		1,000000	0,002505	0,005339
chory IL-18 <58	1,000000		0,065371	0,089195
zdrowy IL-18 <58	0,002505	0,065371		1,000000
zdrowy IL-18 >58	0,005339	0,089195	1,000000	

Rycina nr 56. Wpływ genotypu G/G na podwyższenie poziomu IgE w surowicy krwi chorych z AZS z poziomem IL-18 powyżej wartości ROC w porównaniu do poziomu IgE w surowicy krwi osób zdrowych z grupy kontrolnej.



Podobnie, wśród badanych osób z genotypem G/C ujawniono różnicę istotną statystycznie w stężeniu IgE u chorych z AZS z poziomem IL-18 ROC>58 pg/ml w porównaniu do poziomu IgE w surowicy krwi osób zdrowych grupy kontrolnej ($p=0,0014$ i $p=0,0049$). (Ryc. nr 57).

Rycina nr 57. Statystycznie znamiennej wpływ genotypu G/C na stężenie IgE u chorych z AZS z poziomem IL-18> 58 pg/ml w porównaniu do stężenia IgE w surowicy krwi osób zdrowych grupy kontrolnej.



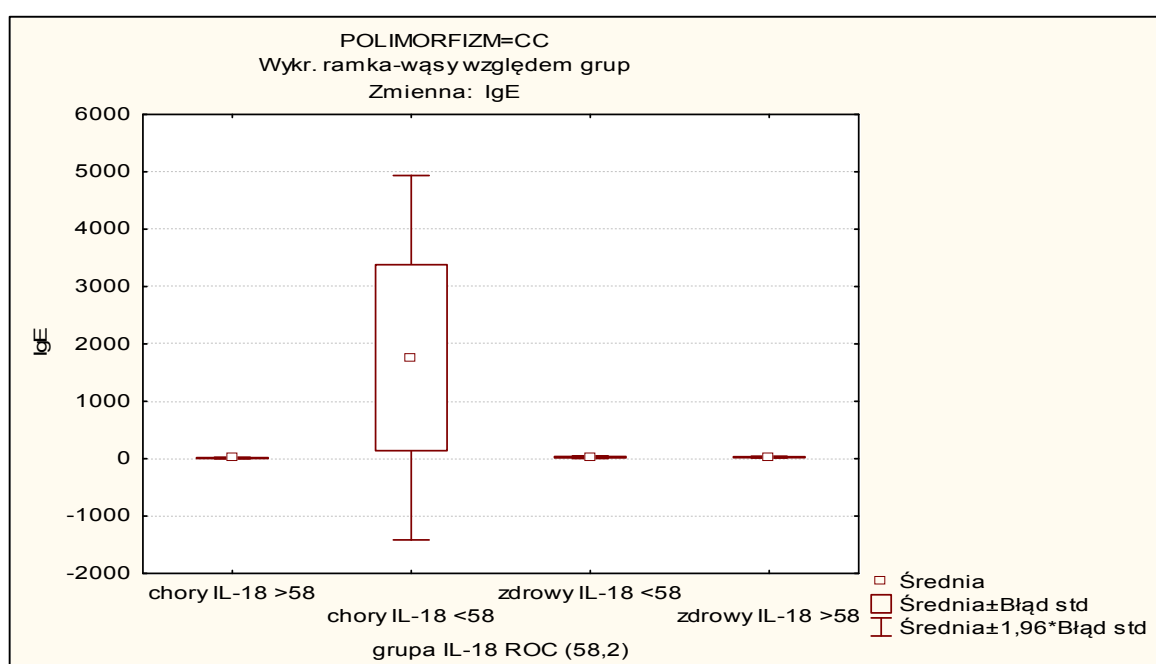
Co ciekawe, wśród badanych osób z genotypem C/C zaobserwowano różnicę statystycznie istotną w poziomie IgE u chorych z AZS z poziomem IL-18 powyżej 58pg/ml w porównaniu do chorych z AZS z poziomem IL-18 poniżej 58pg/ml, co przedstawia tabela nr 17.

Tabela nr 17.

	chory IL-18 >58	chory IL-18 <58	zdrowy IL-18 <58	zdrowy IL-18 >58
chory IL-18 >58		0,033750	1,000000	0,999065
chory IL-18 <58	0,033750		0,065767	0,689396
zdrowy IL-18 <58	1,000000	0,065767		1,000000
zdrowy IL-18 >58	0,999065	0,689396	1,000000	

Chorzy z AZS z genotypem C/C i stężeniem IL-18= 58 pg/ml mieli statystycznie
 znamienne podwyższony poziom IgE ($p=0,033$) w porównaniu do poziomu IgE w
 surowicy krwi chorych z AZS, genotypem CC i poziomem IL-18 powyżej 58 pg/ml
 oraz w porównaniu do poziomu IgE w surowicy krwi zdrowych osób grupy kontrolnej z
 genotypem CC. (Ryc. nr 58).

Rycina nr 58. Wpływ genotypu C/C na stężenie IgE w grupie chorych z AZS i osób
 zdrowych w zależności od poziomu IL-18.



Allel C u chorych z AZS z podwyższonym poziomem IL-18> 58pg/ml wpływał
 na statystycznie znaczne podwyższenie poziomu IgE ($p=0,001$, $p=0,04$). (Ryc. nr
 59).

Rycina nr 59. Znamienno statystycznie wpływ allele C na podwyższenie poziomu IgE u chorych z AZS z podwyższonym stężeniem IL-18 > 58pg/ml w porównaniu do poziomu IgE w surowicy krwi chorych z AZS i poziomem IL-18 < 58pg/ml oraz poziomu IgE w surowicy krwi zdrowych osób z grupy kontrolnej.

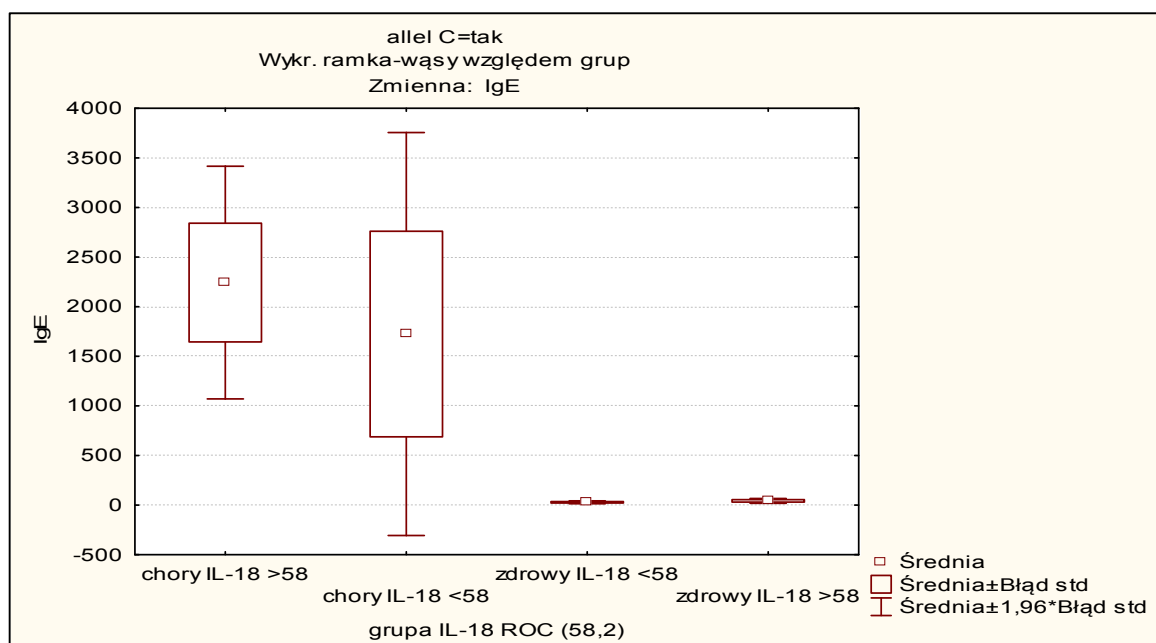
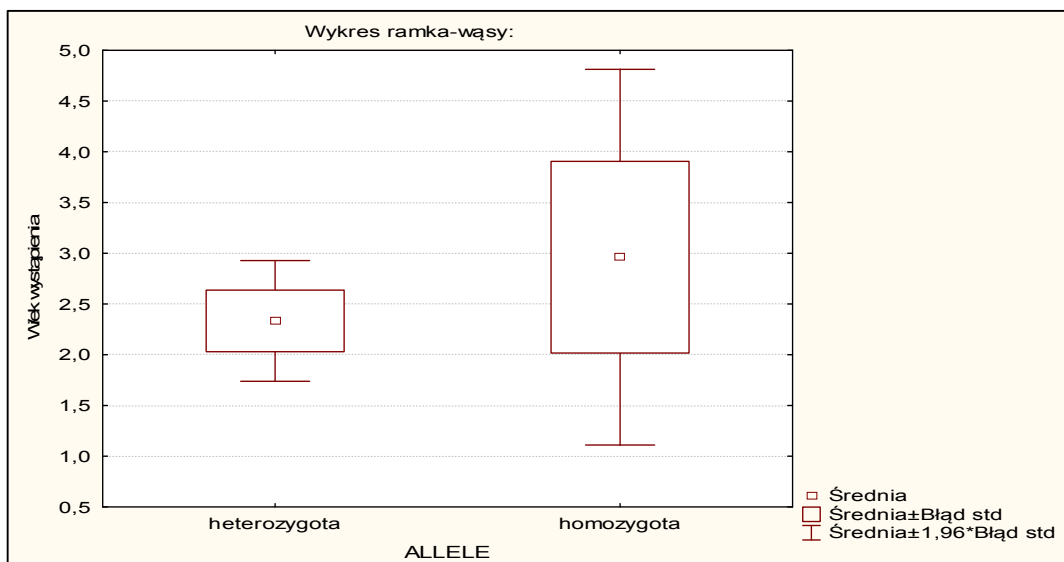


Tabela nr 18. Znamienno statystycznie wpływ allele G na podwyższenie poziomu IgE w surowicy krwi u chorych z AZS w porównaniu do poziomu IgE osób zdrowych.

	chory IL-18 >58	chory IL-18 <58	zdrowy IL-18 <58	zdrowy IL-18 >58
chory IL-18 >58		0,762731	0,000001	0,000008
chory IL-18 <58	0,762731		0,015039	0,035892
zdrowy IL-18 <58	0,000001	0,015039		1,000000
zdrowy IL-18 >58	0,000008	0,035892	1,000000	

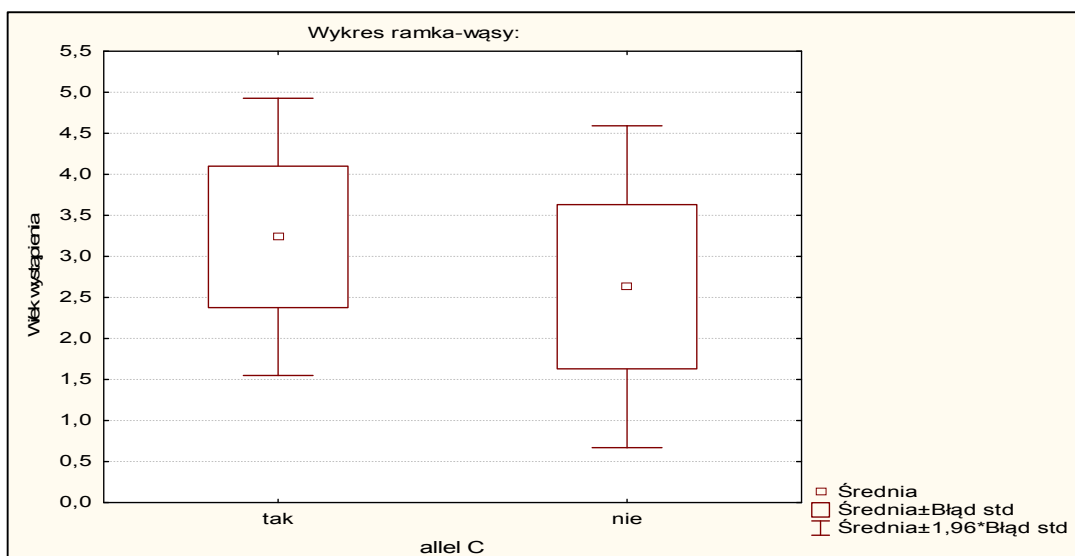
Przeprowadzone badania wykazały, że AZS rozwijało się wcześniej u osobników homozygotycznych ($p=0,040356$; test U Manna-Whitney'a). (Ryc. nr 60).

Rycina nr 60.



Z kolei, posiadanie allela C wpływało na późniejszym wiek wystąpienia AZS ($p=0,040593$). (Ryc. nr 61).

Rycina nr 61.

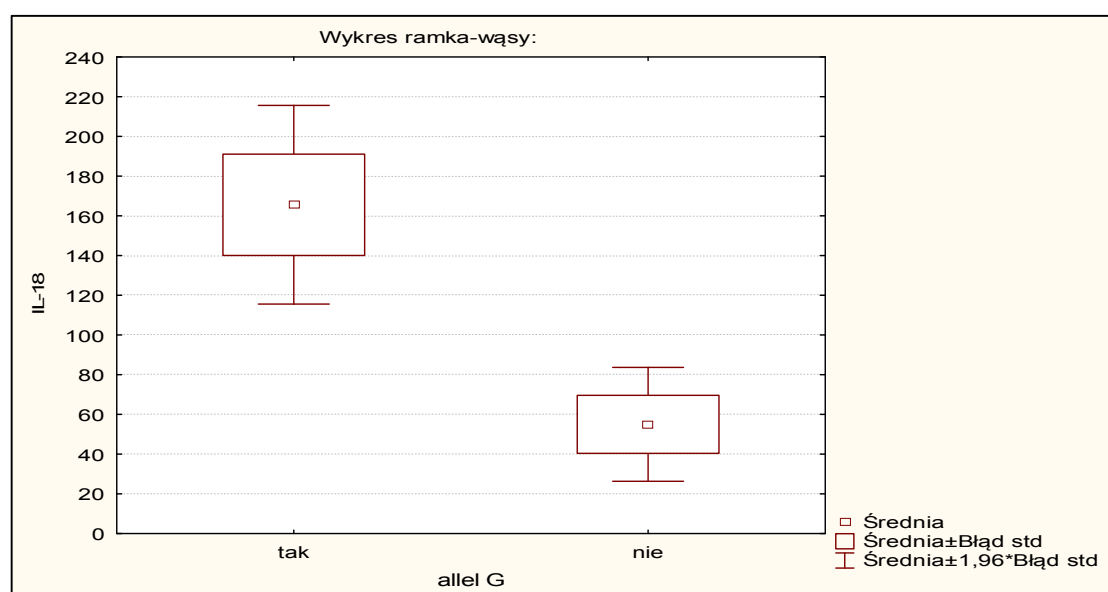


Wyniki przeprowadzonych badań ujawniły, że w grupie chorych z AZS allel G korelował na poziomie istotnym statystycznie z poziomem IgE, stężeniem IL-18 oraz eozynofilią, co ilustrują poniższe tabele i ryciny.

Tabela nr 19. Allel G i jego korelacje obserwowane w grupie chorych z AZS.

Allel G	P test U Manna-Whitheya
IgE	0,033177
IL-18	0,045697
SCORAD	0,605843
EOZYNOFILE %	0,019360
WIEK	0,590595
Wiek wystąpienia	0,538669
zaburzenia snu skala 0-10	0,455320
nasilenie świądu 0-10	0,385753

Rycina nr 62. Allel G związany z podwyższonym stężeniem IL-18 u chorych z AZS.

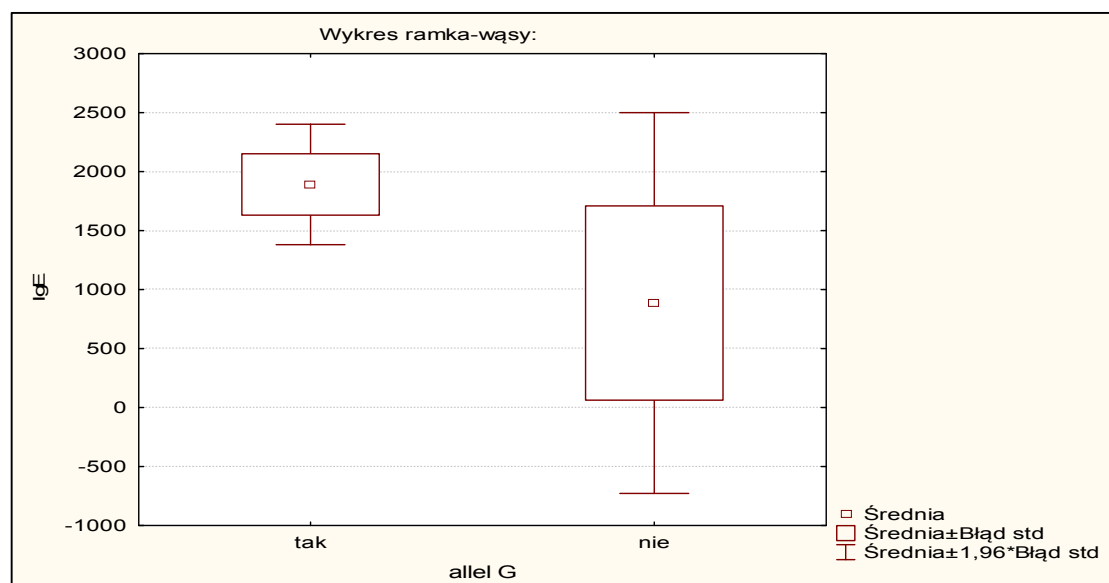


Allel G związany był z podwyższonym poziomem IgE u chorych z AZS ($p=0,02454$; test χ^2). (Tab. nr 20, ryc. nr 63).

Tabela nr 20.

	IgE BIN powyżej	IgE BIN Norma	Wiersz Razem
allel G			
Tak	48	13	61
% z kolu	96,0%	76,5%	
% z Wier	78,7%	21,3%	
Nie	2	4	6
% z kolu	4,0%	23,5%	
% z Wier	33,3%	66,7%	
Ogół	50	17	67

Rycina nr 63.

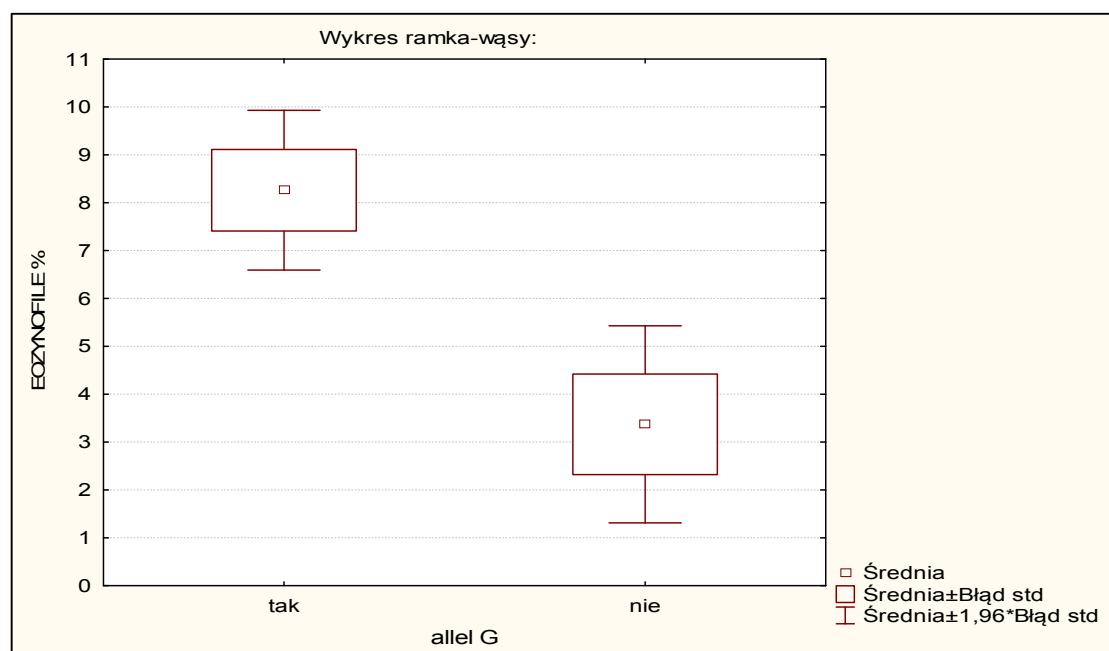


Allel G koreluje z eozynofilią ($p=0,049$). (Tab. nr 21, Ryc. nr 64).

Tabela nr 21.

	EOZYNOFILE	EOZYNOFILE	Wiersz
allel G	Norma	Powyżej	Razem
Tak	26	35	61
% z kołu	83,9%	97,2%	
% z Wier	42,6%	57,4%	
Nie	5	1	6
% z kołu	16,1%	2,8%	
% z Wier	83,3%	16,7%	
Ogół	31	36	67

Rycina nr 64.

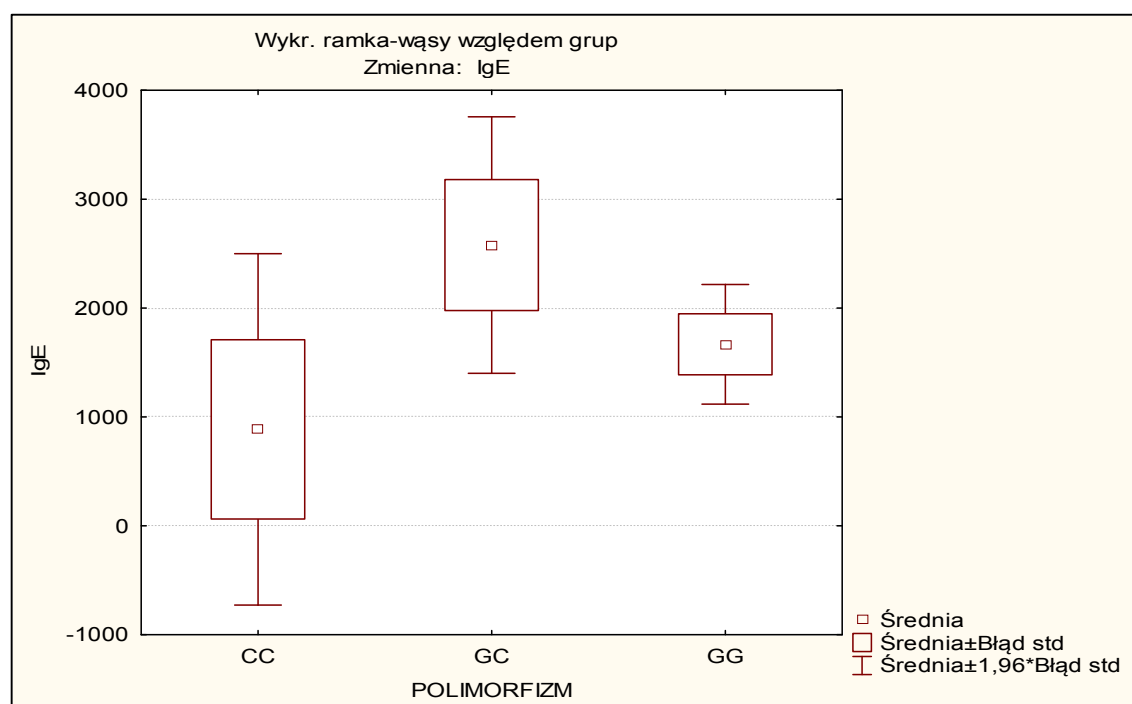


Natomiast, allel G nie korelował z dodatnimi wynikami testów prick ($p=0,36$), nadwrażliwością specyficzną na roztocza kurzu domowego ($p=0,56$), pyłki traw ($p=0,56$), ciężkością przebiegu AZS ($p=0,21808$), zaburzeniami snu ($p=0,30828$), płcią pacjenta ($p=0,65622$).

Nie było także różnic w występowaniu allela G pomiędzy osobami chorującymi na AZS a chorymi z AZS i współistniejącymi innymi chorobami atopowymi (astma, alergiczne zapalenie spojówek, alergiczny nieżyt nosa).

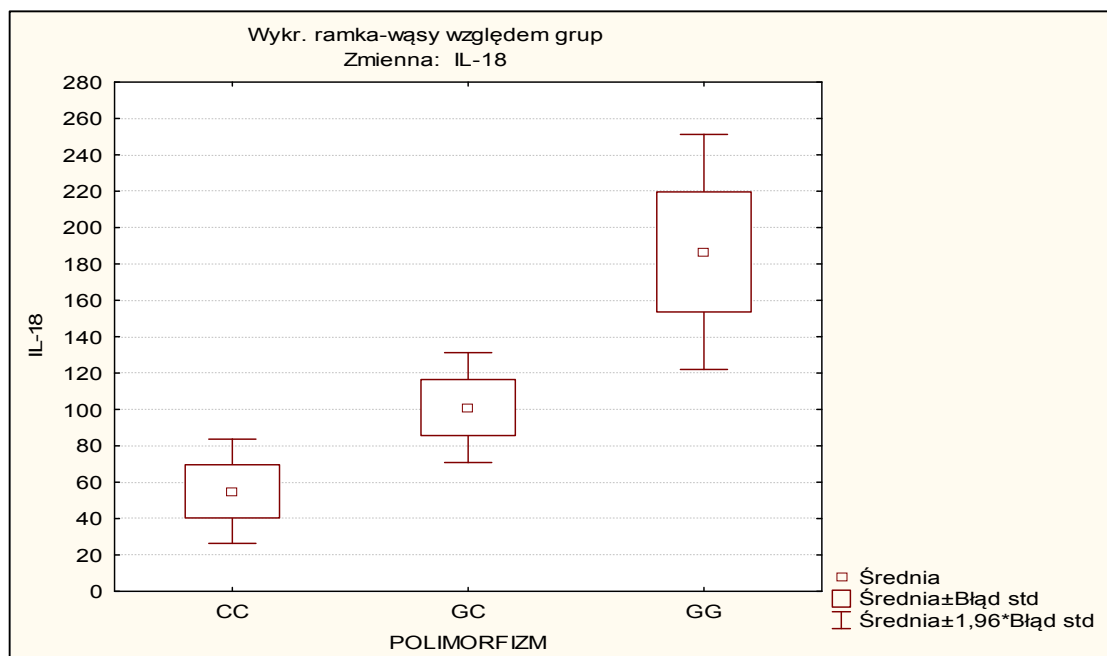
Wyniki badań wykazały, że w grupie chorych z AZS genotyp G/C korelował na poziomie statystycznie znaczącym z podwyższonym poziomem IgE. (Test Kruskala-Wallisa; $p=0,0448$). Rycina nr 65.

Rycina nr 65. Związek genotypu G/C z podwyższonym poziomem IgE w grupie chorych z AZS.



Z kolei, genotyp G/G granicznie korelował ze stężeniem IL-18 w grupie chorych z AZS. (Test Kruskala-Wallisa; $p=0,098$). (Ryc. nr 66).

Rycina nr 66. Związek genotypu G/G ze stężeniem IL-18 w grupie chorych z AZS.



Ponadto w grupie chorych z AZS genotyp G/G granicznie korelował z eozynofilią ($p=0,056$) i wiekiem wystąpienia choroby ($p=0,0713$; Test Kruskala-Wallisa).

U chorych z AZS z podwyższonym poziomem IgE najczęściej występowały:

- genotyp GG. (Tab. nr 23).
- allel G. (Tab. nr 24).

Tabela nr 23. Częstość poszczególnych genotypów IL-18 w grupie chorych z AZS z prawidłowym i podwyższonym poziomem IgE.

	IgE BIN powyżej	IgE BIN norma	Wiersz Razem
CC	2	4	6
% z kolu	4,0%	23,5%	
GC	12	3	15
% z kolu	24,0%	17,6%	
GG	36	10	46
% z kolu	72,0%	58,8%	
Ogół	50	17	67
Chi kwadrat	5,952662	df=2	p=,05098
Pearso			

Tabela nr 24. Częstość allele G u chorych z AZS z podwyższonym i prawidłowym poziomem IgE.

	IgE BIN powyżej	IgE BIN norma	Wiersz Razem
allel G			
Tak	48	13	61
% z Wier	78,7%	21,3%	
Nie	2	4	6
% z Wier	33,3%	66,7%	
Ogół	50	17	67
Chi kwadrat Pearso	5,934593	df=1	p=,01485
Chi^2 NW	5,056456	df=1	p=,02454
dokł. Fishera, 1- stronny			p=,03244

Nie wykazano różnicy znamiennej statystycznej w występowaniu genotypów GC, GG, CC pomiędzy grupą chorych z AZS, a grupą chorych z AZS i z współistniejącymi innymi chorobami kręgu atopii: alergicznym nieżytem nosa ($p=0,53975$), zapaleniem spojówek ($p=0,056$), astmą oskrzelową ($p=0,21597$).

Nie obserwowano związku genotypu C/C, G/G, G/C genu IL-18 z ciężkością przebiegu AZS ($p=0,50077$), zaburzeniami snu ($p=0,5946$), płcią pacjenta ($p=0,88059$), dodatnimi wynikami testów prick ($p=0,64538$), nadwrażliwością specyficzną na roztocza kurzu domowego ($p=0,76686$), czy pyłki traw ($p=0,87918$). (Test χ^2).

6. DYSKUSJA

Z danych z piśmiennictwa wynika, że IL-18 jest cytokiną pleiotropową (15,37,102,103,121,124,138,11), która w zależności od środowiska cytokinowego i podłoża genetycznego, pobudza układ Th1 lub Th2 komórkowy (111,137,138,151,152). W związku z tym, mając na uwadze patogenezę AZS, znaczenie IL-18 dla rozwoju AZS wydaje się być kluczowe.

Dotychczas udokumentowano podwyższony poziom IL-18 w surowicy krwi w przebiegu chorób infekcyjnych, zapalnych, autoimmunologicznych i nowotworowych (154-180). Stwierdzono podwyższony poziom IL-18 w surowicy krwi pacjentów z chorobą Netertona (104), astmą (104,182-184) i alergicznym nieżytem nosa (104,185).

Natomiast badania IL-18 w przebiegu atopowego zapalenia skóry (AZS) przeprowadzane były dotychczas w niewielkich populacjach i głównie wśród ludzi rasy żółtej (15,138,186,187,294-296). W Polsce badań takich do tej pory nie opublikowano. Wyniki przeprowadzonych przez nas badań ujawniły, że stężenie IL-18 jest statystycznie znamienne podwyższone u chorych z AZS w porównaniu do stężenia tej cytokiny u ludzi zdrowych. Podobne wyniki uzyskali badacze z Korei, Niemiec, Egiptu, Turcji, Chin i Japonii (15,103,71,138,186,187,294-296). Grupa chorych z AZS i osób zdrowych, stanowiąca grupę kontrolną, były w naszych badaniach znacznie liczniejsze w porównaniu z dotychczas badanymi w innych ośrodkach, a ponadto dotyczyła odmiennej etnicznie populacji.

Liczebność osób i średnie stężenie IL-18 w surowicy krwi u osób badanych w różnych krajach zobrazowano tabelarycznie.

PAŃSTWO	Liczba osób zdrowych	Stężenie IL-18 u zdrowych	Zakres stężeń IL-18 u osób zdrowych	Liczba chorych z AZS	Stężenie IL-18 u chorych	Zakres stężeń IL-18 u chorych	Wartość p
Korea 2007; Kim E. i wsp (15)	24	213,5	86,2- 1112,6	50	259,15	43,8- 908,9	0,05
Egipt 2008; Shaker O. i wsp (71)	10	125,8	104-140	17	401,2	209- 615	0,012
Turecja 2006; Aral M. i wsp. (138)	19	12,5	12,5-73	20	68	23-81	<0,001
Japonia 2002; Yoshizawa i wsp. (187)	10	144	116-178	26	207	172- 242	0,026
Chiny 2004; Hon KLE i wsp. (186)	-	-	-	19	394	204- 612	-
Japonia 2001; Shida K i wsp. (294)	-	122	-	18	200	50-500	0,05
Korea 2007; Park S i inni (296)	-	151	-	-	332	-	0,05
Polska 2008;	50	65,37	1,5-295,2	67	155,78	2,3- 1207,6	0,00026

Być może podwyższony poziom IL-18 w surowicy krwi chorych z AZS wynika z nadmiernej aktywacji caspazy 1, która uaktywnia IL-18. Caspaza 1 powstaje z procaspazy pod wpływem proteazy serynowej (104), a wiadomo, że w AZS

obserwujemy podwyższoną ilość protez serynowych (228). Udowodniono, że w zespole Netertona, w którym współistnieją objawy rybiej łuski i atopowego zapalenia skóry, aktywność caspazy-1 i stężenie IL-18 były podwyższone, w związku z czym sugerowano ich rolę w patogenezie AZS (104).

Początkowo IL-18 znana była jako czynnik indukujący $\text{INF}\gamma$ (95,98,102,106,111,113,114,137-140). Zatem jej podwyższone stężenie w surowicy krwi chorych powinno teoretycznie podnosić poziom $\text{INF}\gamma$, wpływać na układ Th1 i przyczyniać się do obniżenia poziomu IgE. Stąd możnaby wnioskować, że IL-18 może mieć znaczenie dla rozwoju AZS niezależnego od IgE (intrinsic AZS)?. W 1999 roku odkryto zdolność IL-18 do bezpośredniego pobudzania mastocytów i bazofili do degranulacji i uwalniania mediatorów zapalnych i rozwoju reakcji zapalnej w mechanizmie IgE-niezależnym. Wykazano, że mastocyty pobudzone synergistycznie przez IL-18 i IL-3 wydzielają głównie IL-13, natomiast bazofile zarówno IL-4 jak i IL-13 (113). Hoshino i wsp. (153) dowodzili, że IL-18, działając wspólnie z IL-2, może pobudzać produkcję IgE również na drodze niezależnej od IL-4. W kolejnych badaniach nad IL-18, Konishi i wsp. (52), na podstawie badań eksperymentalnych na myszach transgenicznym postulowali, że to właśnie IL-18, a nie IgE jest odpowiedzialna za indukcję alergicznego zapalenia skóry (52). U myszy transgenicznym, pozbawionych genu STAT6 odpowiedzialnego za przekazanie sygnału dla rozwoju reakcji alergicznej i produkcji IgE odnotowano nieznaczalne poziomy IgE, obniżony poziom histaminy oraz redukcję mastocytów. Mimo to, u myszy występował świąd i zmiany skórne typowe dla AZS. Myszy transgeniczne pozbawione IL-18 nie ujawniły cech zapalenia skóry, pomimo znaczącego poziomu IgE. Stąd wpływ IL-18 na rozwój AZS na drodze IgE niezależnej wydawał się prawdopodobny. Analizując powyższe dane należy się zastanowić, dlaczego u badanych przez nas chorych atopowych z niskim/prawidłowym

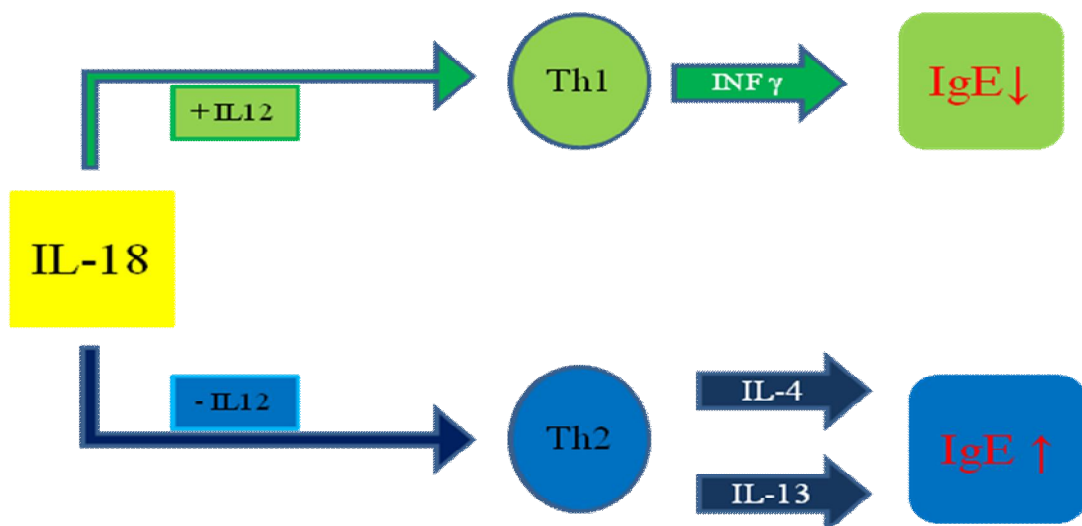
poziomem IgE, stężenie IL-18, aczkolwiek było co prawda podwyższone, nie miało to znaczenia znamiennej statystycznie. Uzyskane przez nas wyniki są odmienne od uzyskanych doświadczalnie na modelach zwierzęcych, które przypisywały IL-18 wpływ na rozwój AZS na drodze IgE niezależnej (52,113). Być może, wyniki naszego opracowania obarczone są błędem statystycznym, wynikającym z objęcia badaniem zbyt małej grupy pacjentów AZS z niskim poziomem IgE, bo dotyczyły one zaledwie 17 osób. Niewykluczone, że przy powiększeniu grupy badanych udałoby się udowodnić, że u pacjentów z AZS, u których występują objawy choroby a mają oni niskie stężenie IgE w surowicy, poziom IL-18 byłby statystycznie znacząco wyższy. Dotychczas jedynie naukowcy z Japonii na podstawie badań przeprowadzonych w 2007 roku obejmujących grupę 370 dzieci z AZS zamieszkujących uprzemysłowione regiony kraju sugerowali, że poziom IL-18 jest związany z objawami alergicznymi skóry, niezależnie od poziomu IgE (295). Inni japońscy autorzy (137), na podstawie badań stężeń IL-18 w surowicy metodą ELISA u pacjentów z AZS, zdrowych wolontariuszy oraz transgenicznych myszy udowodnili, że stężenie IL-18 negatywnie koreluje z poziomem IgE, zarówno na modelu zwierzęcym jak i ludzkim. Nasze wyniki dowodzą, że tylko u pacjentów z podwyższonym poziomem IgE w surowicy krwi, poziom IL-18 jest statystycznie znacząco podwyższony.

Wykazano, że u pacjentów z AZS produkowana jest mniejsza ilość $INF\gamma$, co wynika z obniżonej ekspresji mRNA dla $INF\gamma$ u tych chorych (15,187). Autorzy podają, że obwodowe mononukleary krwi mają obniżoną zdolność do produkcji $INF\gamma$, który odwrotnie proporcjonalnie koreluje z poziomem IgE (17), czym hipotetycznie można tłumaczyć wysokie poziomy IgE u pacjentów z AZS. Zjawisko obniżonego poziomu $INF\gamma$ u chorych atopowych tłumaczono dawniej niedoborem IL-18, która jest czynnikiem pobudzającym produkcję $INF\gamma$ (17). Na podstawie wyników naszych

badan oraz innych autorów (7,103,71,138,186,187,294-296), wiemy jednak, że poziom IL-18 jest podwyższony u pacjentów z AZS. W związku z tym, teoretycznie poziom INF γ też powinien być u tych chorych podwyższony. Wynika jednak z badań Yoshizawy i wsp. (187), że jest on obniżony. Czy zatem obniżony poziom INF γ u chorych atopowych wynika z niewydolności IL-18, czy zaburzeń przekazywania, czy też oddziaływania środowiska immunologicznego. Udowodniono, że w sytuacji zablokowania, nieobecności lub obniżenia poziomu INF γ , IL-18 działa alergenotwórczo to jest poprzez pobudzenie syntezy interleukin: IL-4 i IL-13 czyli przez układ Th2 (113). Działanie takiej cytokiny ta wykazuje jedynie we współdziałaniu z IL-12. Z kolei, przy wystarczającym poziomie INF γ , po dodaniu IL-12 w warunkach eksperymentalnych, IL-18 wykazuje działanie antyalergiczne. Interesującym jest, co dzieje się, jeśli IL-12 jest niewydolna lub jej brak.

Podsumowując, IL-18 działając wraz z IL-12 ma właściwości antyalergiczne. Pod nieobecność IL-12 lub z IL-12, ale w nieobecności INF γ bądź też oddziałując bezpośrednio na bazofile i mastocyty w sprzężeniu z IL-3, cytokina ta ma właściwości alergiczne (17,52,113). Ponadto pod nieobecność INF γ (148,187), IL-18 pobudza IL-13, która jest odpowiedzialna za wzrost poziomu IgE u pacjentów z AZS (37,11,297,298).

Potencjalna rolę IL-18 w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej ujawniająca jej przeciwstawne działania można przedstawić graficznie: (wg 15).



Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że poziom IgE w surowicy krwi chorych z AZS był statystycznie znamienne wyższy w stosunku do obserwowanego u osób zdrowych grupy kontrolnej ($p=0,00000$), a poza tym u pacjentów z AZS i z podwyższonym poziomem IgE, poziom IL-18 był statystycznie znamienym wyższy ($p=0,000085$) w stosunku do poziomu IL-18 w surowicy krwi osób z grupy kontrolnej. Niejednokrotnie udawadniano, że IL-18 wpływając na syntezę IL-4 i IL-13 i pobudzenie układu Th2 podnosi poziom IgE u pacjentów z chorobami alergicznymi (15,37,113,120,124, 148-151).

Wyniki badań nad korelacją stężenia IL-18 z poziomem IgE w surowicy krwi chorych z AZS są sprzeczne. Część autorów (186,294), nie odnajduje tej korelacji, ale badania te dotyczą małych grup pacjentów (18-19 osób). Z kolei w naszym materiale (67 pacjentów) oraz naukowców z Korei (646 pacjentów) oraz z Japonii (370 pacjentów) zaobserwowano znacząca statystycznie korelację IL-18 z IgE (15, 295). Odwrotnie przedstawiają się wyniki badania korelacji stężenia IL-18 z ciężkością przebiegu AZS ocenianego za pomocą skali SCORAD. Jest ona odnajdywana przez badaczy opisujących nieliczne grupy pacjentów z AZS w Japonii (187) i Turcji (138),

natomiast zanika ona w naszych wynikach i po opracowaniu wyników uzyskanych z badań liczniejszych grup chorych z AZS (15).

W przeciwieństwie do Yoshizawy i wsp (187), badania nasze wykazały związek pomiędzy poziomem IgE a eozynofilią. Natomiast, pomimo doniesień, że podanie IL-18 do płuc myszy wpływa na rekrutację eozynofili do tej tkanki (151) i obserwowaną korelację pomiędzy poziomem IL-18 a eozynofilią u pacjentów z AZS w populacji japońskiej (187) i tureckiej (138), przeprowadzone przez nas badania nie wykazały korelacji między stężeniem IL-18 z eozynofilią. Podobne wyniki uzyskali Kim E i wsp. (15).

U badanych przez nas chorych obserwowano natomiast związek między eozynofilią a ciężkością przebiegu AZS, co stwierdzają również inni badacze (187,296). Ponadto badania nasze udowodniły, że ciężkość procesu chorobowego oceniana za pomocą skali SCORAD korelowała znacząco z poziomem IgE w surowicy krwi chorych z AZS. Podobną korelację zaobserwowała też większość autorów badająca IL-18 i jej wpływ na przebieg AZS (15,138,187,294-296,299). Korelację SCORAD z eozynofilią na poziomie istotnym statystycznie, podobnie do nas, opisywali Park i wsp. (296), Yoshizawa i wsp. (187) oraz Kim i wsp. (15). Wyniki naszych badań wykazały także związek ciężkości przebiegu AZS z podwyższonym stężeniem IL-18 w surowicy krwi u pacjentów, podobnie jak wyniki uzyskane w populacji tureckiej (138), japońskiej (187), chińskiej (186) i koreańskiej (296). Poniważ poziom IL-18 korelował z kliniczną aktywnością choroby, stąd IL-18 można uznać za marker ciężkości przebiegu AZS (186,295,296). Jednak autorzy Kim i wsp (15) oraz Shaker i wsp. (71) nie wykazali korelacji SCORAD ze stężeniem IL-18.

Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że stężenie IL-18 nie miało związku z dodatnimi wynikami testów trick. Podobne rezultaty opublikowali Hon i wsp. (186).

Próbując wyjaśnić wpływ stresu oksydacyjnego na rozwój AZS wykazano, że poziom IL-18, IgE i chemokin koreluje z poziomem hemoxygenazy 1 (HO-1) w surowicy krwi chorych z AZS. Poziom HO-1 jest podwyższony w surowicy krwi i skórze pacjentów z AZS i może być obiecującym celem strategicznym leczenia choroby (300). Stężenie IL-18 podnosi się w stresie pod wpływem aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, a obniżane jest przez układ parasympatyczny (258). IL-18 odnajdywana jest w komórkach endokrynnych, w przysadce i nadnerczach. Stąd ostatnio postulowana jest jej rola neuro-immuno-modulująca, która także może tłumaczyć znaczenie IL-18 w rozwoju AZS. W naszych badaniach nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem IL-18 a zaburzeniami snu, czy nasileniem świądu. Podobnie jak naukowcy z Chin (186), którzy badali wpływ IL-18 na te parametry w grupie dzieci z AZS również nie znaleźli takiej zależności. Zależność stężenia IL-18 od poziomu stresu byłaby trudna do zobiektywizowania. Można jednak przypuszczać, że skoro stężenie IL-18 jest znacząco podwyższone w okresie zaostrzenia AZS, a stres odgrywa tu dużą rolę, to przypuszczalnie u pacjentów atopowych poziom IL-18 podnosi się w sytuacjach stresorodnych, ale niewątpliwie wymaga to dowodów.

Analizując badania histopatologiczne i immunohistochemiczne można stwierdzić, że w ostrych zmianach skórnych powstałych w przebiegu AZS przeważa profil cytokin Th2 zależnych (m.in. IL-4, IL-13) (17,65,66,69), a w zmianach przewlekłych profil cytokin Th1 (m.in. INF γ , IL-12) (55,69,72-75). Badania z 2008 roku, przeprowadzone w Egipcie na małej grupie pacjentów (17 chorych i 10-osobowa grupa kontrolna) wykazały, że w chorobowo zmienionej skórze pacjentów z AZS rzeczywiście znacząco wyższa jest ekspresja mRNA dla IL-4, IL-5 i IL-13, ale także dla IL-18 i nerwowego czynnika wzrostowego NGF (nerve growth factor) (71). Badania ekspresji mRNA IL-18 w skórze przeprowadzono po raz pierwszy i objęły one małą grupę pacjentów. Biorąc pod uwagę

heterogenną rolę IL-18 i wyniki badań, które potwierdzają znaczenie IL-18 w rozwoju AZS, wydaje się, że warto zbadać ekspresję mRNA dla IL-18 w bioptatach skóry ze zmian wypryskowych przewlekłych i ostrych i porównać z badaniami skóry zdrowych osób, a także skóry pozornie niezmienionej chorych z AZS. Wykazano już, że w biopsjach klinicznie niezmienionej skóry pacjentów z AZS w porównaniu do skóry osób zdrowych obserwowano zwiększoną ekspresję mRNA dla IL-4, IL-13 (17,69,70). Dowiedziono także, że keratynocyty pacjentów z AZS mają większą ekspresję podjednostki α receptora IL-18 w porównaniu z keratynocytami ludzi zdrowych (301). W związku z wynikami badań, które ujawniły, że stężenie IL-18 jest znamienne statystycznie podwyższone u pacjentów z AZS, a IL-18 może odgrywać kluczową rolę w patogenezie AZS, postanowiliśmy zbadać znaczenie polimorfizmu genu IL-18 w rozwoju tego schorzenia.

Poszukiwania genu odpowiedzialnego za występowanie atopii prowadzone są od wielu lat na całym świecie. Obecnie wydaje się, że podłoże genetyczne AZS powinno się rozważać w kontekście genów kodujących strukturalne białka oraz genów kodujących główne elementy układu immunologicznego (7). Ostatnio najmodniejszy stał się gen kodujący filagrynę (42-46). Dowiedziono, że mutacja filagryny pojawia się głównie u pacjentów z wczesnym początkiem rozwoju AZS i występuje tylko u 30% europejskich atopików. Nasuwa się pytanie, co jest przyczyną defektu bariery skórnej u pozostałych pacjentów bez mutacji w genie filagryny i jakie geny odpowiadają za zaburzenia immunologiczne w przebiegu AZS.

Dotychczas wykazano, że różnorodne geny, które kodują cytokiny biorące udział w regulacji syntezy IgE, były związane z występowaniem AZS (30,31-33). Szeroko dyskutowany był związek mutacji w genie chromosomu 11 (11q13), kodujący łańcuch

FC ϵ RI β (36). Na wspomnianym chromosomie 11q znajduje się również gen kodujący badaną przez nas IL-18.

Badania polimorfizmu w obrębie genu IL-18 i jej receptora wydają się tym bardziej sensowne, że wewnątrzkomórkowy fragment łańcucha β receptora IL-18 zawiera domenę Toll, która łączy IL-18 z receptorem Toll-like. Receptor Toll-like rozpoznaje także antygeny mikroorganizmów. Związanie IL-18 z receptorem α prowadzi do aktywacji łańcucha β i domeny Toll w cytoplazmatycznym fragmencie łańcucha receptora IL-18 i obrazuje zjawisko mimikry między IL-18 a antygenami mikroorganizmów. Procesy te pośrednio świadczą o roli IL-18 w patogenezie AZS. Zjawisko mimikry może tłumaczyć fakt, że polimorfizm w obrębie Toll like receptor (TLR2 R753Q) wiąże się z ciężkim fenotypem AZS (39). Ostatnie publikacje sugerowały silny związek polimorfizmu receptora IL-18- IL18R1 z astmą i fenotypem atopowym, a gen który go koduje, zlokalizowany na chromosomie 2q12, był rozpatrywany jako gen kandydat dla astmy (220). Jako kolejny obiecujący gen kandydat dla astmy i atopii rozpatrywany był gen IL1RL1 (interleukin 1 receptor like gene), znany też jako ST2 (221). Zlokalizowany jest on blisko genów kodujących receptor IL1 czyli ILR1, ILR2, ILRL1, ILRL2, IL18R (302). Sugerowano związek polimorfizmu genu IL1R1L i IL18R1 i IL118RAP z astmą i atopią (221) oraz związek polimorfizmu w IL1RL1 z AZS (303).

Z kolei gen, ludzkiej IL-18 jest zlokalizowany na chromosomie 11q22.2-22.3 (15,35,122,150), a chromosom 11q22 został także zidentyfikowany jako gen kandydat dla atopii. (15,35,200,201).

W przeprowadzonych dotychczas badaniach wykazano związek polimorfizmu genu IL-18 z chorobami Th1 i Th2 zależnymi (15,103,122,202-222). Graficznie zilustrowano

częstości polimorfizmów i alleli w przykładowych chorobach Th1 i Th2 zależnych dla pozycji 137 G/C w genie IL-18.

Allel	Liczba kontroli	procent	Liczba pacjentów	Procent	p	choroba	AUTORZY KRAJ/ROK
CC	26	8,3	37	6,9	0,7	Alergiczny nieżyt nosa	Sebolova i wsp (222) Czech/2006
CG	125	40,1	216	40	0,7		
GG	290	51,6	286	53,1	0,7		
G	447	71,6	394	73,1	0,27		
C	177	28,4	145	26,9	0,27		
GG	118	78,7	88	74,6	0,43	Cukrzyca typu I	Dong i wsp (208) Chiny/2007
GC	30	20	27	22,	0,57		
CC	2	1,3	3	2,5	0,47		
G	268	8,3	203	86	0,37		
C	32	10,7	33	14			
GG	13	28,3	46	68,7	0,00	AZS	Polska 2008
GC	16	34,8	15	22,4			
CC	17	37,0	6	9,0			
G	42	45,7	107	79,9			
C	50	54,33	27	20,1			

We wszystkich badanych schorzeniach allel G wydaje się być dominującym. Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że u chorych z AZS allel G był również

najczęstszy, podobnie jak homozygota GG. W najnowszych badaniach nad polimorfizmem genu IL-18 w chorobach alergicznych przedstawiono związek allele 607A z rozwojem alergicznego nieżytu nosa w populacji koreańskiej i marginalnie związany z polimorfizmem 607C/A poziom IgE (304). Związek allele A w pozycji 607 genu IL-18 z występowaniem astmy atopowej, choć nie z ciężkością jej przebiegu, ani poziomem IgE, wykryto u dzieci tunezyjskich (305). Sugerowano większe ryzyko rozwoju astmy wśród homozygoty C/C w pozycji 105 genu IL-18 w populacji chińskiej (219) oraz brak związku allele 105A z poziomem IgE i poziomem IL-18 w populacji astmatyków japońskich (218).

Na podstawie przeprowadzonych przez nas badań można domniemywać, że allel C i homozygoty C/C w pozycji 137 genu IL-18, u których obserwowano niższe poziomy IgE i IL-18 i które występowały częściej u osób zdrowych, mają raczej właściwości „chroniące” przed wystąpieniem AZS.

Badając związek polimorfizmu genu IL-18 z AZS Novak i wsp (103), wydzielili pacjentów na pacjentów z typem extrinsic AZS i z nadwrażliwością na roztocza kurzu domowego lub bez nadwrażliwości na roztocza kurzu domowego oraz grupę pacjentów z intrinsic typem AZS. W porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych autorzy ci wykazali znaczące statystycznie różnice dla polimorfizmu 137 G/C, 113 G, 127 T w promotorze 1 i 133G w promotorze 2. Najsilniejszy związek opisano dla polimorfizmu -137G/C, zlokalizowanego w okolicy GATA3, który zaangażowany jest w polaryzację w kierunku układu Th2 (124,306,307). Novak i wsp. (103), potwierdzają związek polimorfizmu -137G/C genu IL-18 z występowaniem AZS szczególnie z postacią intrinsic AZS.

Wyniki naszych badań nie ujawniły statystycznie znaczącego związku wariantów genetycznych genu IL-18 w pozycji 137 w odniesieniu do poziomu IL-18 w surowicy

krwi u chorych z AZS z niskim/prawidłowym poziomem IgE w stosunku do grupy kontrolnej. Przeciwnie, obserwowano wpływ genotypu G/G i allele G na wyższe stężenia IL-18 u pacjentów z podwyższonym IgE w stosunku do osób zdrowych grupy kontrolnej. Z kolei poziom IgE w surowicy krwi chorych atopowych ze stężeniem IL-18 powyżej 58pg/ml (wartość ROC) znacząco różnił się dla genotypu G/G i także G/C w porównaniu ze stężeniem IgE w grupie kontrolnej osób zdrowych.

Novak i wsp.(103) nie znaleźli różnic statystycznie znamiennej dla związku badanych polimorfizmów genu IL-18 ze SCORAD, poziomem IgE i płcią pacjentów. Natomiast badacze ci (103) u pacjentów z badanymi przez nich wariantami genetycznymi IL-18, zaobserwowali znacząco podwyższoną produkcję IL-18 przez stymulowane toksynami gronkowca granulocyty. Wyniki naszych badań także nie potwierdziły związku polimorfizmu genu IL-18 ze SCORAD, płcią ani wiekiem pacjenta, ale wykazały związek na poziomie istotnym statystycznie z późniejszym wiekiem wystąpienia AZS dla allele C i homozygot C/C ($p=0,04$). Ponadto udało się nam wykazać, że allele G był u wszystkich badanych osób ($p=0,00003$), jak również w grupie chorych z AZS ($p=0,033$) znamienne statystycznie związany z podwyższonym poziomem IgE. Stwierdziliśmy, że w badanej grupie homozygoty G/G miały znamienne podwyższony poziom IL-18 ($p=0,0049$), natomiast wśród chorych z AZS odnotowano graniczną korelację polimorfizmu -137G/C IL-18 z podwyższonym stężeniem IL-18, co mogło wynikać z faktu zbyt małej grupy objętej badaniem. Przeprowadzone przez nas badania udokumentowały znamienne statystycznie związki allele G z podwyższonym poziomem IL-18 ($p=0,045$) u chorych z AZS.

Udowodniono, że genotyp G/G związany jest z występowaniem astmy atopowej (111). Z kolei Krusei i wsp. (122), badając polimorfizmy 113T/G i 127C/T w exonie 1, -137 G/C w promotorze 1 i -133G/C w promotorze 2 genu IL- 18 w populacji

niemieckiej wykazali, że polimorfizm 137 G/C IL-18 był znacząco związany z wysokim poziomem IgE i nadwrażliwością specyficzną u pacjentów z alergicznym nieżytem nosa. W naszym badaniu wykazano związek polimorfizmu -137 G/C genu IL-18 z podwyższonym poziomem IgE ($p=0.039$) i brak związku genotypów G/G, G/C, C/C i poszczególnych alleli z dodatnimi wynikami testów prick.

Kim i wsp. (15) badali związek polimorfizmu rs795467, rs4937113, rs5744247 genu IL-18 wśród 1120 koreańczyków, w tym 433 z AZS. Wykazali znaczącą różnicę polimorfizmu rs795467 dla pacjentów z typem extrinsic AZS (Ade), a grupą kontrolną osób zdrowych oraz związek haplotypu TTC z ADe. Polimorfizm rs795467 nie miał wpływu na poziom IL-18, ale poziom tej cytokiny w grupie ADe był podwyższony (15). Sugerowano też, że związek polimorfizmu -137 G/C IL-18 jest niezależny od współistniejących chorób alergicznych (103). Przeprowadzone przez nas badania również nie wykazały, aby polimorfizm genu IL-18 w pozycji 137 miał znamienne statystyczne znaczenie dla współistnienia innych chorób atopowych z AZS.

Badania wpływu polimorfizmów na chromosomie 1,3,5,13,15,18 i 20 w populacji ludzi rasy białej dowiodły wysokiego związku ze skłonnością do wystąpienia AZS (308-309). W populacji chińskiej nie znaleziono korelacji ani alleli ani genotypów dla IL-4, IL-10, IL12B, IL-13, IL4R, TNF α , STAT6, INF γ z AZS (310). Nie wykazano też związku między wariantami genetycznymi w/w cytokin z wiekiem wystąpienia choroby, eozynofilią czy poziomem IgE. W naszych badaniach natomiast obserwowano znamienne statystycznie związki allela C z późniejszym wiekiem wystąpienia AZS oraz związku allela G z eozynofilią ($p=0,049$), poziomem IgE ($p=0,033$) i stężeniem IL-18 ($p=0,045$).

Przeprowadzone dotychczas nieliczne badania (15,103,303,308-310) wpływu polimorfizmu genu IL-18 na rozwój AZS dotyczą różnych regionów genu IL-18 lub jej

receptora. Ponadto wyniki tych badań wskazują na różnice etniczne w występowaniu polimorfizmów genu IL-18, a większość z nich potwierdza znaczenie wariantów genetycznych w obrębie genu IL-18 w rozwoju AZS. Wydaje się, że temat ten wymaga dalszych, dokładniejszych badań.

Zasadność badań nad IL-18 potwierdzają możliwości terapeutyczne wykorzystujące poznane właściwości tej cytokiny. Dotychczas IL-18 wypróbowywana była jako nowy lek w immunoterapii nowotworów (190-192), a jej receptor- inhibitor w leczeniu ciężkich postaci łuszczycy i reumatoidalnego zapalenia stawów (97). Sugerowano też zastosowanie miejscowych czynników blokujących IL-18 do leczeniu skórnych manifestacji toczenia rumieniowatego (175).

Terapie genowe, które wydają się być odległym celem, dzięki coraz lepszej diagnostyce i postępowi medycyny, mogą stać się rozwiązaniem leczniczym wielu chorób, których patogeneza zostanie do tego czasu dobrze poznana.

7. PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI

1. Poziom IL-18 jest podwyższony u chorych na AZS na poziomie istotnym statystycznie.
2. IL-18 może być markerem różnicującym ciężkość przebiegu AZS.
3. U chorych z AZS z podwyższonym poziomem IgE w surowicy krwi, poziom IL-18 jest statystycznie znamienne wyższy w porównaniu z chorymi na AZS z prawidłowym/niskim poziomem IgE oraz osobami zdrowymi grupy kontrolnej.
4. U chorych z AZS z niskim poziomem IgE, średni poziom IL-18 jest wyższy niż w grupie osób zdrowych, ale bez znaczenia statystycznego.
5. Nie występuje korelacja stężenia IL-18 w surowicy krwi chorych z wiekiem, płcią, wiekiem wystąpienia AZS, eozynofilią, nasileniem świądu, zaburzeniami snu oraz nadwrażliwością specyficzną.
6. U pacjentów z AZS i współistniejącą chorobą z kręgu atopii (astmą, alergicznym nieżytem nosa lub alergicznym zapaleniem spojówek) nie obserwuje się statystycznie znaczących zmian w poziomie IL-18 w surowicy krwi w stosunku do pacjentów z AZS bez współistnienia tych chorób.
7. Genotyp G/G w pozycji -137 genu IL-18 i allel G dominują znacząco zarówno w grupie chorych z AZS jak i w grupie chorych z AZS i podwyższonym poziomem IgE w surowicy krwi.
8. U chorych z AZS genotyp G/C koreluje z podwyższonym poziomem IgE.
9. U chorych z AZS genotyp G/G wykazuje graniczną korelację ze stężeniem IL-18 oraz eozynofilią.
10. Allel G wykazuje związek z podwyższonym poziomem IgE, IL-18 oraz eozynofilią u chorych z AZS.

11. Allel C dominuje u osób zdrowych; osoby posiadające allel C wykazują znamienne niższe wartości IgE i IL-18 w surowicy krwi niż osoby nie posiadające tego allele.
12. U chorych z AZS allel C wykazuje związek z późniejszym wiekiem wystąpienia choroby.
13. U chorych z AZS przebiegającym z podwyższonym poziomem IgE w surowicy krwi, genotyp G/G, podobnie jak allel G, wykazuje statystycznie znamienny związek z podwyższonym stężeniem IL-18 w surowicy krwi.
14. Żaden z wariantów genetycznych w pozycji 137G/C promotora genu IL-18, ani żaden z poszczególnych alleli nie ma związku z płcią pacjenta, ani nie ma wpływu na ciężkość przebiegu AZS, występowanie zaburzeń snu, nadwrażliwość specyficzną, nie predysponuje również do rozwoju AZS z towarzyszącymi chorobami z kręgu atopii.
15. Polimorfizm -137G/C genu IL-18 wydaje się odgrywać rolę w rozwój AZS.
16. Genotyp GG i allel G, poprzez wykazany związek z podwyższonym poziomem IgE u chorych z AZS, wydają się mieć wpływ na rozwój tego schorzenia, szczególnie na postać AZS przebiegającą z podwyższonym poziomem IgE.

WNIOSKI:

1. IL-18 odgrywa istotną rolę w patogenezie AZS.
2. Stężenie IL-18 w surowicy krwi można uznać za marker ciężkości przebiegu AZS.
3. Określone warianty genetyczne w promotorze genu IL-18 w pozycji 137 wydają się predysponować do rozwoju AZS.
4. Allel G wydaje się warunkować wystąpienie cech AZS.
5. Allel C wydaje się posiadać właściwości „chroniące” przed występowaniem AZS.

8.1. STRESZCZENIE

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest jedną z najczęstszych chorób skóry o podłożu alergicznym. Charakteryzuje się określoną dla wieku morfologią i typową lokalizacją zmian skórnych, nasilonym świądem, pozytywnym atopowym wywiadem rodzinnym oraz przewlekłym i nawrotowym przebiegiem. W patogenezę choroby zaangażowane są czynniki genetyczne, immunologiczne, środowiskowe, psychiczne oraz dysfunkcja bariery skórnej. Pomimo nieustających badań istota choroby pozostaje nadal enigmatyczna. Poznanie złożonej patogenezy AZS jest drogą do skutecznej profilaktyki, wdrożenia nowych, efektywnych metod leczniczych oraz poprawienia jakości życia chorych i ich rodzin.

Interleukina 18 (IL-18) jest cytokiną plejotropową, która odgrywa kluczową rolę w kontroli równowagi między odpowiedzią komórkową typu Th1 i Th2. Ostatnio cytokinie tej przypisuje się istotną rolę w rozwoju chorób atopowych. Działając synergistycznie z IL-12, powoduje ona zwiększenie syntezy INF γ i stymuluje odpowiedź typu Th1 hamując syntezę IgE. Z drugiej strony IL-18 może indukować wydzielanie IL-4, IL-13 i tym samym zwiększać produkcję IgE, co nie pozostaje bez wpływu na patomechanizm chorób atopowych. Ponadto, w obecności IL-3, IL-18 bezpośrednio stymuluje bazofile i komórki tuczne do wydzielania mediatorów reakcji zapalnej z pominięciem mechanizmu IgE- zależnego. To działanie może potwierdzać jej znaczenie w rozwoju AZS niezależnego od IgE.

Gen ludzkiej IL-18 jest zlokalizowany na chromosomie 11q22.2-22.3, a region 11q22 został zidentyfikowany jako gen kandydat dla atopii.

Celem pracy było stwierdzenie, czy istnieje związek między stężeniem IL-18 w surowicy krwi a występowaniem AZS oraz czy zachodzi korelacja pomiędzy stężeniem tej cytokiny a ciężkością przebiegu choroby, wiekiem jej wystąpienia, wiekiem i płcią

pacjenta, nasileniem świądu, zaburzeniami snu, eozynofilią i nadwrażliwością specyficzną. Próbowano ocenić, czy stężenie IL-18 w surowicy krwi różni się u pacjentów z AZS, które przebiega z prawidłowym lub podwyższonym poziomem IgE i w związku z tym, czy cytokina ta może mieć znaczenie dla patogenezы tego schorzenia, szczególnie postaci AZS rozwijającej się niezależnie od podwyższonego stężenia IgE. Ponadto, porównano stężenia IL-18 oraz poziomu IgE w surowicy krwi chorych na AZS, u których występowały także inne choroby z kręgu atopii, z poziomem IL-18 oraz IgE w surowicy krwi chorych na AZS bez współistniejących chorób z kręgu atopii (astma, alergiczny nieżyt nosa, alergiczne zapalenie spojówek).

W dalszym etapie badań poszukiwano związku polimorfizmemu -137 G/C genu IL-18 z rozwojem i przebiegiem AZS. Oceniano wpływ polimorfizmu -137 G/C genu IL-18 na występowanie AZS z prawidłowym lub podwyższonym poziomem IgE. Badano wpływ określonych wariantów genetycznych w obrębie genu IL-18 na poziom IgE i IL-18 u pacjentów z AZS oraz na poziom IL-18 w grupie pacjentów z prawidłowym lub podwyższonym poziomem IgE. Szacowano związek polimorfizmu -137 G/C genu IL-18 z płcią pacjentów, ciężkością przebiegu choroby, nadwrażliwością specyficzną, eozynofilią, zaburzeniami snu u pacjentów z AZS. Obserwowano, czy warianty genetyczne w pozycji 137 G/C genu IL-18 różniły się u chorych na AZS w porównaniu do chorych z AZS i współistniejącą astmą, alergicznym zapaleniem spojówek lub alergicznym nieżytem nosa.

Badaniem objęto 117 osób: 67 pacjentów z AZS, obu płci, w wieku powyżej 5 roku życia leczonych w Klinice Dermatologii AMG oraz grupę kontrolną, którą stanowiło 50 osób zdrowych z negatywnym atopowym wywiadem rodzinnym.

Do oceny poziomu IL-18 w surowicy krwi badanych użyto zestawu manulanych testów do ilościowej detekcji IL-18 in vitro, w których wykorzystuje się

immunoenzymatyczną metodę ELISA. Pomiar poziomu przeciwciał klasy IgE w surowicy krwi przeprowadzono przy pomocy aparatu UniCap 100 E z testem fluoroimmunoenzymatycznym. Dla oznaczenia polimorfizmu genu IL-18 zastosowano metodę allospecyficznego reakcji łańcuchowej polimerazy (ARMS-PCR). Do pomiaru ciężkości przebiegu AZS posłużono się skalą SCORAD (Severity Score of Atopic Dermatitis). Dane, uzyskane z przygotowanej specjalnie dla badania ankiety osobowej, opracowano statystycznie za pomocą pakietu statystycznego StatSoft STATISTICA wersja 8.0 oraz arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel wersja 2003. Posłużono się testami: W Shapiro-Wilka, równości wariancji, U Manna-Whitneya, Kruskala-Wallisa, χ^2 . We wszystkich testach statystycznych za poziom statystycznej istotności przyjęto $p < 0,05$.

Przeprowadzone badania wykazały AZS o ciężkim przebiegu u 28 pacjentów z 67 badanych (41,8%), średnio nasilone u 25 chorych (37,3%), zaś lekki przebieg AZS miało 14 osób (20,9%). SCORAD wyniósł średnio 49,6 (11,5-85). Zaburzenia snu występowały u 52,2% pacjentów. Stężenie IL-18 u chorych z AZS wyniosło średnio 155,681 pg/ml i było istotnie statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych ($p = 0,000262$). Stężenie IL-18 u pacjentów z ciężkim przebiegiem AZS było statystycznie znamienne wyższe niż u pacjentów z lekką postacią choroby ($p = 0,003$). W grupie pacjentów z podwyższonym poziomem IgE, poziom IL-18 był statystycznie znamienne wyższy niż w grupie kontrolnej ($p = 0,00085$). Nie znaleziono natomiast korelacji stężenia IL-18 z wiekiem pacjenta ($p = 0,36$), wiekiem wystąpienia AZS ($p = 0,27$), płcią ($p = 0,8$), zaburzeniami snu ($p = 0,1$), nasileniem świądu ($p = 0,15$), eozynofilią ($p = 0,33$), nadwrażliwością specyficzną na alergen pyłków traw ($p = 0,7$) czy roztoczy kurzu domowego ($p = 0,57$). Nie wykazano także różnic między stężeniem IL-18 w surowicy krwi pacjentów z AZS, a stężeniem IL-18 w surowicy krwi

pacjentów z AZS i współistniejącymi chorobami z kręgu atopii. Natomiast zachodziły statystycznie istotne różnice w poziomie IgE u pacjentów z AZS i współistniejącym alergicznym nieżytem nosa ($p=0,04$), alergicznym nieżytem spojówek ($p=0,03$) oraz astmą oskrzelową ($p=0,01$), w porównaniu z pacjentami chorującymi wyłącznie na AZS.

Przeprowadzone badania wykazały związek polimorfizmu genu IL-18 -137 G/C z rozwojem AZS. Genotyp G/G przeważał wśród pacjentów z AZS (68,7 % przypadków). Allel G dominował w grupie osób chorych ($p=0,00069$), zaś allel C w grupie zdrowych ($p=0,00002$). W grupie chorych z AZS i podwyższonym poziomem IgE dominował genotyp G/G ($p=0,05$) oraz allel G ($p=0,032$).

U chorych z AZS genotyp G/G granicznie korelował ze stężeniem IL-18, eozynofilią i wiekiem wystąpienia AZS. Natomiast genotyp G/C na poziomie istotnym statystycznie ($p=0,044$) korelował z poziomem IgE. W grupie chorych allel G na poziomie znaczącym statystycznie korelował z eozynofilią ($p=0,049$), poziomem IgE ($p=0,033$) oraz stężeniem IL-18 w surowicy krwi ($p=0,045$). Allel C natomiast, miał związek z późniejszym wystąpieniem AZS. Wykazano statystycznie znamiennej związek ($p=0,046$) genotypu G/G z podwyższonymi poziomami IL-18 w surowicy krwi w grupie chorych, u których poziom IgE był wysoki i brak takiego związku u chorych z AZS z prawidłowym poziomem IgE. Pomiedzy grupą chorych na AZS, a grupą chorych z AZS, któremu towarzyszyły inne choroby z kręgu atopii (alergiczny nieżyt nosa ($p=0,53975$), alergiczne zapalenie spojówek ($p=0,056$), astma oskrzelowa ($p=0,21597$)) nie było różnicy znamiennej statystycznej w występowaniu genotypów GC, GG, CC lub poszczególnych alleli. Nie obserwowano związku genotypu C/C, G/G, G/C genu IL-18, ani poszczególnych alleli z ciężkością przebiegu procesu chorobowego ($p=0,50077$), zaburzeniami snu ($p=0,5946$), płcią pacjenta ($p=0,88059$), dodatnimi wynikami testów

prick ($p=0,64538$), nadwrażliwością specyficzną na roztocza kurzu domowego ($p=0,076686$) czy pyłki traw ($p=0,87918$).

W całej badanej grupie homozygoty G/G miały statystycznie znamienne wyższe stężenie IL-18 w surowicy krwi ($p=0,0049$) niż homozygoty C/C i heterozygoty G/C. Pojawienie się allela G miało znamienne statystycznie wpływy na podwyższenie poziomu IgE ($p=0,000020$) i IL-18 ($p=0,003419$) u wszystkich badanych osób.

Reasumując, przeprowadzone badania wskazują, że IL-18 odgrywa istotną rolę w patogenezie AZS i, że stężenie tej cytokiny w surowicy krwi można uznać za marker ciężkości przebiegu choroby. Ponadto można wnioskować, że określone warianty genetyczne -137 G/C IL-18 predysponują do rozwoju AZS. Wpływ IL-18 na rozwój AZS niezależny od IgE, wymaga dalszych badań.

8.2. SUMMARY

Atopic dermatitis is one of the most common allergic diseases. It is chronic, inflammatory diseases characterized by typical for the age morphology and localization of the skin lesions. It is associated with severe itch and connected with positive family history of the allergic diseases. The genetic, immunological, environmental and psychological factors are involved in the pathogenesis of AD, the same as skin barrier dysfunction. For years many scientists have tried to clear mysterious pathogenesis of AD, but it stays still enigmatic. Thanks to the new clues, which let us know more about the complicated pathogenesis of AD, we can propose better profilactic, new therapeutic strategies and improve the quality of life of the patients and their families, which as we know, is significant decreased.

Interleukin 18 (IL-18) is a pleiotropic cytokine that plays a crucial role in the control of the balance between Th1 and Th2 response. Recently IL-18 is considered as an important player involved in the development of allergic diseases. Synergistically with IL-12, IL-18 promotes immune response of the Th1 type, by enhancing $\text{INF}\gamma$ synthesis and inhibition of IgE production. On the other hand, IL-18 can enhanced IL-4 and IL-13 production and stimulate IgE synthesis and thanks to theses function influences on the allergic diseases, also atopic dermatitis development. Moreover, in the presence of IL-3, IL-18 can directly stimulates basophiles and mast cells to produce their mediators in an IgE- independent manner in vitro, thus this results may prove the role of IL-18 in the pathogenesis of intrinsic AD. The gene of IL-18 is located on chromosome 11q22.2-22.3, that has been designated as a candidate region for atopy.

The aim of the study was to estimate the association between the serum IL-18 level and atopic dermatitis development and observed if there is any correlation of IL-18 and onset and severity of the disease, itch, eosinophilia, specific sensitization, sleep

disturbances, age or sex of the patient. Moreover, if the IL-18 serum concentration correlates with IgE levels anyway in the patient's sera and if the IL-18 can influence the IgE-independent development of AD. The study compares the IL-18 levels in the sera of patients with atopic dermatitis to the levels from the sera of patients with atopic dermatitis and other allergic diseases. Furthermore, this study searches for the association between the -137G/C IL-18 gene polymorphism and the development and the course of atopic dermatitis, depending also on normal and enhanced level of IgE. Another purpose was to perform if the -137G/C IL-18 gene polymorphism influences the IL-18 and IgE level in the sera of AD patients or the IL-18 concentration in the sera of AD patients with normal or enhanced level of IgE. The research for the association of the -137G/C IL-18 polymorphism with sleep disturbances, eosinophilia, specific hypersensitivity, sex of the patient and the comparison of the IL-18 genotypes of the patients with AD to the patients of AD and other allergic diseases were also performed in this study.

117 persons, both sex: 67 patients of Dermatological Department of Medical University of Gdańsk, everyone over 5 years old, suffering from atopic dermatitis and 50 healthy volunteers were included to the study.

IL-18 serum concentration was measured by using ELISA tests. Total IgE Fluoroimmunoassay test in the Unicap 100 E machine was used to evaluate levels of total IgE in the plasma serum. Allele-specific reaction of DNA chain polymerase (ARMS-PCR) was used for genotyping and polymorphisms analysis. SCORAD (Severity Score of Atopic Dermatitis) scale helped to determine the severity of the diseases. The data from a specially for the study prepared inquiry were statistically worked out using StatSoft STATISTICA version 8.0 and Microsoft Excel 2003. The W

Shapiro-Wilk, U Mann-Whitney, Kruskal-Wallis and χ^2 were performed. The statistical significance were established for the $p < 0,05$.

According to the results severe AD was observed in 28 of the 67 patients (41,8%), middle one in 25 cases (37,3%) and slight one in 14 patients (20,9%). The SCORAD value were found between 11,5 and 85 (mean score 49,6). Problems with the sleep were reported by 52,2% of the patients. The mean serum level of IL-18 was 155,681 pg/ml and it was statistically significantly higher than in the control group ($p=0,000262$). The concentration of IL-18 were determined statistically and were found significantly higher in the sera of the patients with severe AD than in the sera of the patients with slight course of AD ($p=0,003$). In the group of patient with enhanced level of IgE, the concentration of IL-18 was higher on the statistically significant level than in the control group and in the group ($p=0,000085$). There were no correlation of IL-18 levels with the patient's age ($p=0,36$), onset of AD ($p=0,27$), sex ($p=0,8$), sleep problems ($p=0,1$), specific sensitization to grass pollens ($p=0,7$), mite allergens ($p=0,57$), or the itch level ($p=0,15$). No differences of IL-18 serum concentration were found between the patients with AD and the patients with AD connected with other allergic diseases. The statistically significant differences were observed for the IgE levels in patient with AD comparing to the patients with AD and allergic rhinitis ($p=0,04$), allergic conjunctivitis ($p=0,03$), asthma ($p=0,01$).

This data suggest the association of polymorphism in the promotor 1 of the IL - 18 gene in position 137 with development of AD. The polymorphism GG were prevalent in the patients group- 68,7 % of the cases. Allel G dominated in the patients group ($p=0,00069$), and allel C in the control group ($p=0,00002$). In the group of the AD patients with enhanced IgE levels G/G ($p=0,05$) genotype and G-allele ($p=0,032$) were dominated.

In the AD patients group, there were found border correlation between 137GG polymorphism and concentration of IL-18, eosinophilia and onset of the diseases and statistically significant ($p=0,044$) G/C genotype correlation with IgE level. G-allele correlated with eosinophilia ($p=0,049$), IgE level ($p=0,033$) and IL-18 concentration ($p=0,045$), and the C-allele indicated association with later onset of the AD on statistically significant level in the patients group. There was statistically significant association between GG genotype, with IL-18 levels in the group of the patients with enhanced level of IgE ($p=0,046$) and no such an association with the group of patient with normal level of IgE. There were no statistically significant differences in the GC, GG, CC genotypes or the particular alleles in the patients group refer to AD patient with allergic rhinitis ($p=0,53975$) or allergic conjunctivitis ($p=0,056$) or asthma ($p=.0,21597$). There was no association between 137C/C, G/G, G/C polymorphisms or in the particular alleles with severity of the diseases ($p=0,50077$), sleep disturbances ($p=0,5946$), sex ($p=0,88059$), positive prick tests ($p=0,64538$), specific sensitization to mite allergens ($p=0,76686$), or grass pollens ($p=0,87918$).

In the whole study group homozygotes G/G indicated statistically significant higher concentration of IL-18 in the sera ($p=0,0049$) than homozygotes C/C and heterozygotes GC. The presence of G allele had a statistically significant influence on the increased IgE level ($p=0,000020$) and IL-18 level ($p=0,003419$).

This research indicates that IL-18 plays a significant role in the pathogenesis of atopic dermatitis. It can be an usefull clinical marker for the severity of the diseases. Additionally these data suggest that polymorphisms of -137G/C IL-18 gene might be involved in the development of AD in polish population.

The IL-18 influence on the IgE- independent development of AD needs further study.

9. PIŚMIENICTWO

1. Hofman T, Michalik J. Alergia pyłkowa. TOM- Usługi Wydawnicze Tomasz Adamski, Poznań 1998. ISBN 83-907607-0-3.
2. Plusa T, Jahnz- Różyk K. Alergologia współczesna. Med. Press, Warszawa 2006. ISBN 83-916116-8-x.
3. Romański B, Bartuzi Z. Alergie i nietolerancje pokarmów. Problem społeczny i lekarski współczesnej cywilizacji. Śląsk Sp. Z.o.o Wydawnictwo Naukowe, Katowice-Warszawa 2004. ISBN 83-7164-350-0.
4. Miklaszewska M, Wąsik F. Dermatologia pediatryczna. Volumed, Wrocław 1999. ISBN 83-87804-17-7.
5. Johansson SGO, Hourihane JO, Bousquet J i inni. Revised nomenclature for Allergy. An EAACI position statement from EAACI nomenclature task force. Allergy 2001; 56: 813- 824.
6. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF i inni. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization. J Allergy Clin Immunol 2004; 113: 832- 836
7. Bieber T. Atopic Dermatitis. N Eng J Med 2008;358 (14): 1483- 4.
8. Novak N, Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. J Allergy Clin Immunol 2003; 112: 252- 62.
9. Bardana EJ. Immunoglobulin-E (IgE) and non-IgE-mediated reactions in the pathogenesis of atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS). Allergy 2004; 59(78): 25-29.
10. Dzieńis K, Tryniszewska E, Kaczmarek M. Zaburzenia równowagi immunologicznej subpopulacji limfocytów Th1 i Th2 oraz rola ich wybranych cytokin w atopowym zapaleniu skóry. Post Dermatol Alergol 2006; 2: 88- 93.
11. Terada M, Tsutsui H, Imai Y, Yasuda K, Mizutani H, Yamanishi K i inni. Contribution of IL-18 to atopic dermatitis-like skin inflammation induced by Staphylococcus aureus product in mice. PNAS 2006; 23: 8816- 8821.
12. Novak N, Bieber T, Leung D. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 2003; 112: 128-139.

13. Schmid-Grendelmeier P, Simon D, Simon H.U., Akdis C.A, Wuthrich B. Epidemiology, clinical features and immunology of the intrinsic type of atopic dermatitis. *Allergy* 2001; 56: 841- 849.
14. Novembre E, Cianferoni A, Lombardi E, Bernardini R, Pucci N, Vierucci A. Natural history of 'intrinsic' atopic dermatitis. *Allergy* 2001; 56: 452- 463
15. Kim E, Lee JE, Namkung JH, Park JH, Kim S, Shin ES i inni. Association of the single nucleotide polymorphism and haplotype of the interleukin 18 gene with atopic dermatitis in Koreans. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 865- 871.
16. Williams H, Flohr C. How epidemiology has challenged 3 prevailing concepts about atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 209- 13.
17. Leung DY, Bieber T. Atopic dermatitis. *The Lancet* 2003; 361: 151- 160.
18. Schultz-Larsen F, Hanifini JM. Epidemiology of atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2002; 22: 1-24.
19. Williams H, Robertson C, Stewart A, Ait-Khaled N, Anabwani G, Anderson R i inni. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 125-9.
20. Von Mutius E. The envirmetal predictors of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 9-19.
21. Zutavern A, Hirsch T, Leupol W, Weiland S, Keil U, von Mutius E. Atopic Dermatitis, extrinsic atopic dermatitis and the hygiene hypothesis: result from a cross-sectional study. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1301- 8.
22. Martinez ED. The coming-of-age of hygiene hypothesis. *Respiratory Research* 2001; 2: 129- 133.
23. Weiss ST. Eat dirt- the hygiene hypothesis and allergic diseases. *N Eng J Med* 2002; 347: 930- 5.
24. Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 3- 408.
25. Mohrenschlager M., Darsow U, Schnopp C, Ring J. Atopic eczema: what's new? *JEADV* 2006, 20: 503- 513. ISSN 1468-3038.
26. Elias PM, Hatano Y, Williams ML. Basis for the barrier abnormalities in atopic dermatitis: Outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1337- 43.

27. Elias PM, Steinhoff M. „Outside-to-inside”(and now back to „outside”) pathogenic mechanisms in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008; 128 (5): 1067- 1070.
28. Schulz Larsen FV, Holm NV. Atopic dermatitis in population based twin series: concordance rates and heritability estimation. *Acta Derm Venerol Suppl (Stockh)* 1985; 114: 159.
29. Larsen FS. Atopic dermatitis: genetic- epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 719- 23.
30. Morar N, Willis- Owen SA, Moffatt MF, Cookson WO. The genetics of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 24- 34
31. Hoffjan S, Epplen JT. The genetics of atopic dermatitis: recent findings and future options. *J Mol Med* 2005; 83: 682- 92
32. Forrest S, Dunn K, Elliott K i inni. Identifying genes predisposing to atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 1066- 70
33. Lee YA, Wahn U, Kehrt E, Tarani L, Businco L, Gustafsson D i inni. A major susceptibility locus for atopic dermatitis maps to chromosome 3q21. *Nat Genet* 2000; 26: 470- 473
34. Kurz T, Strauch K, Heinzmann A, Braun S, Jung M, Ruschendorf F, i inni. An European study on the genetics of mite sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 925- 32.
35. Koppelman GH, Stine OC, Xu J, Howard TD, Zheng SL, Kauffman HF i inni. Genom- wide search for atopy susceptibility genes in Dutch families with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 498- 506.
36. Cox HE, Moffatt MF, Faux JA, Walley AJ, Coleman R, Trembath RC i inni. Association of atopic dermatitis to the β subunit of the high affinity immunoglobulin E receptor. *Br J Dermatol* 1998; 138:182-5.
37. Gołab J, Jakóbisiak M, Lasek W. *Immunologia* . PWN 2002.
38. Kawashima T, Noguchi E, Arinami T, Yamakawa-Kobayashi K, Nakagawa H, Otsuka F, Hamaguchi H. Linkage an association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families. *J Med Genet* 1998; 35: 502.
39. Ahmad-Nejad P, Marbet-Dahbi S, Breuer K, Klotz M, Werfel T, Herz U i inni. The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 565- 7.

40. Cookson W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 978-88.
41. Cookson WO, Ubhi B, Lawrence R, Abecasis GR, Walley AJ, Cox HE i inni. Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet* 2001; 21: 372- 373
42. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, i inni. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38: 441- 6.
43. Weidinger S, Illig T, Baurecht H i inni. Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:214-9.
44. Marenholz I, Nickel R, Rüschemann F i inni. Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 866-71.
45. Sandilands A, Terron-Kwiatkowski A, Hull PR i inni. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema. *Nat Genet* 2007; 39: 650- 4.
46. Nomura T, Sandilands A, Akiyama M, i inni. Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 434- 40.
47. Vasilopoulos Y, Cork MJ, Murphy R, i inni. Genetic association between an AACC insertion in the 3'UTR of the stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 62-6.
48. Söderhäll C, Marenholz I, Kerscher T, i inni. Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. *PLoS Biol* 2007; 5(9): e242.
49. Jagiello P, Gencik M, Arning L, Wiczorek S, Kunstmann E, Csernok E, i inni. New genomic region for Wegener's granulomatosis as revealed by extended association screen with 202 apoptosis related genes. *Human Genetics* 2004; 114, 468.
50. Wiczorek S, Jagiello P, Arninig L, Dahmen N, Epplen JT. Screening for candidate gene regions in narcolepsy using a microsatellite based approach and pooled DNA. *J Mol Med* 2004; 110:422-5.
51. Hoffjan S, Parwez Q, Petrasch-Parwez E, Falkenstein D, Nothnagels M, Epplen JT. Association screen for atopic dermatitis candidate gene regions using microsatellite in pooled DNA samples. *Int J Immunogenet* 2006; 33: 401-409

52. Konishi H, Tsutsui H, Murkami T, Yumikura-Futatsugi S, Yamanaka K, Tanaka M i inni. IL-18 contributes to the spontaneous development of atopic dermatitis- like inflammatory skin lesion independently of IgE/stat6 under specific pathogen-free conditions. *PNAS* 2002; 17 (99): 11340-45
53. Wanat-Krzak M, Kurzawa R. Atopowe zapalenie skóry- etiopatogeneza, diagnostyka i leczenie. *Alergologia i pulmonologia wieku dziecięcego. Klin Pediatr* 2002;10:237-244
54. Kuna P. Atopowe zapalenie skóry. W: *Immunologia kliniczna*. Kowalski M(red). Mediton 2000; 199-240.
55. Silny W, Czarnecka-Operacz M. Atopowe zapalenie skóry- udział limfocytów T i komórek Langerhansa w rozwoju zmian skórnych. *Allergia, Astma, Immunologia* 2000; 5: 15- 20.
56. El-Mezayen RE, Matsumoto T. In vitro responsiveness to IL-18 in combination with IL-12 or Il-2 by PBMC from patients with bronchial asthma and atopic dermatitis. *Clin Immunol* 2004; 111: 61- 68.
57. Spergel JM, Mizoguchi E, Oettgen H i inni. Roles of Th1 and Th2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis. *J Clin Invest* 1999; 103: 1103- 19.
58. Herrick CA, Xu L, Mckenzie ANJ i inni. IL-13 is necessary, not simple sufficient, for epicutaneously induced Th2 response to saluble protein antigen. *J Immunol* 2003; 170: 2488- 5.
59. Laouini D, Alenius H, Bryce P, i inni. IL-10 is critical for Th2 response in a murine model of atopic dermatitis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1058- 66.
60. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulindependant diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1994; 24: 1428- 36.
61. Pfitzner E, Kliem S, Baus D, Litterst CM. The role of STATs in inflammation and inflammatory diseases. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 2839- 50.
62. Di Cesare A, Di Megli P, Nestle FO. A role for Th17 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 2569- 71.
63. Koga C, Kabashima K, Shiraishi N, Kabayaski M, Tokura Y. Possible pathogenic role of TH17 cells for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 2625- 30.
64. Gliński W. II Ogólnopolska Konferencja Edukacyjna, Streszczenia i prezentacje. *Czelej* 2008; 15-21
65. Wollenberg A, Kraft S, Hanau D, Bieber T. Immunomorphological and ultrastructural characterization of Langerhans cells and the novel inflammatory

- dendritic epidermal cell population in the lesional skin of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 446- 53.
66. Allam JP, Bieber T, Novak N. Recent highlights in the pathophysiology of atopic eczema. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136: 191- 7.
 67. Reich K, Hugo S, Middel P, Blaschke V, Heine A, Gutgessel C i inni. Evidence of a role of Langerhans cell-derived IL-16 in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 10: 681- 87.
 68. Toda M, Leung DY, Boguniewicz M, Taha R, Christodoulouopoulos P, Fukuda T, i inni. Polarized in vivo expression of IL-11 and IL-17 between acute and chronic skin lesions. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 875- 81.
 69. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DY. Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1994; 94: 870- 76.
 70. Hamid Q, Naseer T, Minshall M, Song YL, Boguniewicz M, Leung DY. In vivo expression of IL12 and IL-13 in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 225- 31.
 71. Shaker O, El-Komy M, Zeidan N. Possible role of nerve growth factor and IL-18 in pathogenesis of eczematous lesions of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2008; doi 10.1016
 72. Machura E, Mazur B, Grzywna E, i inni. Ekspresja CD23 na limfocytach B i stężenie IL-4, IL-10, IL-12 u dzieci z zespołem atopowego zapalenia skóry. *Alergia, Astma Immunologia* 2004; 9: 3-44.
 73. Grewe M, Gyufko K, Schopf E, Krutmann J. Lesional expression of INF γ in atopic eczema. *Lancet* 1994; 343: 25-26.
 74. Grewe M, Bruijnzeel-Koomen C, Schopf E, Thepen T, Langeweld-Wildschut A, Ruzicka T, i inni. A role of Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunol Today* 1998; 19: 359- 61.
 75. Taha RA, Leung DY, Ghaffar O, Boguniewicz M, Hamid Q. In vivo expression of cytokin receptor mRNA in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 245- 50.
 76. Girolomoni G, Lutz MB, Pastore S, Assmann CU, Cavani A, Ricciardi-Castagnoli P. Establishment of cell line with features of early dendritic cell precursors from fetal mouse skin. *Eur J Immunol* 1995; 25: 2163- 69.
 77. Gliński W. Patogeneza AZS. *Post Dermatol Alergol* 2001; 2: 75-9.

78. Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD i inni. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 2004; 113: 651-7.
79. Dinarello CA. Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am J Clin Nutr* 2006; 2: 447- 455.
80. Trinchieri G. Interleukin 12 a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions the bridge innate resistar and antigen specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 251- 76.
81. Dinarello CA. Overview of IL-18: more than INF γ inducing factor. *J Leukoc Biol* 1998; 63: 658- 64.
82. Novak N, Valenta R, Bohle B, Laffer S, Haberkstock J, Kraft S, Bieber T. Fc ϵ RI engagement of Langerhans cells-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes in vitro. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 94-7.
83. Zhang XR, Zhang LY, Devades S, i inni. Reciprocal expression of trlal and CD5L in Th1 and Th2 cells: role of apoptosis in T-helper subset differentiation. *Cell Death Differ* 2003; 10: 203- 10.
84. Akids M, Trautmann A, Klunker S, Daigle J, Kucukzecer UC, Deglman W, i inni. T helper (Th2) predominance in atopic diseases is due to preferential apoptosis of circulating memory/ effector Th1 cells. *FASEB J* 2003; 17: 1026- 35.
85. Matsui K, Wirothesangthong M, Nishikawa A. Peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* induces IL-4 production from murine spleen cells via an IL-18-dependent mechanism. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 146: 262- 6.
86. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, i inni. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol* 2002; 3: 673- 80.
87. Leung DYM. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 99-108.
88. Leung DYM, Jain N, Leo HL. New concepts in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 634- 8.
89. Hanifi JM. Immunologic aspects of atopic dermatitis. *Dermatol Clin* 1999; 8: 747- 50.
90. Cooper KD, Stevens SR. T-cell in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 10- 12.

91. Cooper KD. Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 128- 37.
92. Higashi N, Gesser B, Kawana S, Thestrup-Pedersen K. Expression of IL-18 mRNA and secretion of IL-18 are reduced in monocytes from patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 607- 14.
93. Katsunuma T, Kawahara H, Yuki K, i inni. Impaired interferon- γ production in a subset population of severe atopic dermatitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 240- 7.
94. Woodward AL, Spergel JM, Alenius H, i inni. An obligate role for T-cell receptor $\alpha\beta^+$ T- cells but not T-cell receptor $\gamma\delta^+$ T- cells, B- cells or CD40/CD40L interactions in a mouse model of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 359- 66.
95. Thompson SR, Humphries SE. Interleukin-18 genetics and inflammatory disease susceptibility. *Genes Immun* 2007;8:91-99.
96. Okumara H, Nogata K, Komatsu T, Tanimoto T, Nukata Y, Tanabe F, i inni. A novel costimulatory factor for γ -interferon induction found in the livers of mice causes endotoxin shock. *Infect Immun* 1995; 63: 3966- 3972.
97. Dinarello CA. Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am J Clin Nut* 2006; 2: 447- 455.
98. Okumara H, Tsutsui H, Komatsu Y, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, i inni. Cloning of a new cytokine that induces INF- γ production by T-cell. *Nature* 1995; 378: 88- 91.
99. Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. *Semin Nephrol* 2007; 27: 98- 114.
100. Pietrzak A, Zalewska A, Chodorowska G, Nockowski P, Michalak-Stoma A, Osemlak P, Krasowska D. Genes and structure of selected cytokines involved in pathogenesis of psoriasis. *Folia Histochem Cytobiol* 2008; 1: 11- 21.
101. Dinarello CA. Interleukin-1 β , interleukin 18 and the interleukin-1 β converting enzyme. *Annu N Y Acad Sci* 1998; 856: 1- 11.
102. Shikano H, Kato Z, Kaneko H, Watanabe M, Inoue R, Kasahara K, i inni. INF γ production in response to IL-18 or IL-12 stimulation by peripheral blood mononuclear cells of atopic patients. *Clin Exp Allergy* 2001; 8: 1263- 1270.
103. Novak N, Krause S, Potreck J, Maintz L, Janneck C, Weidinger S, Fimmers R, Bieber T. Single nucleotide polymorphisms of the IL-18 gene are associated with

- atopic eczema. *Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 828- 33.
104. Hosomi N, Fukai K, Nakanishi T, Funaki S, Ishii M. Capsase-1 activity of stratum corneum and serum interleukin 18 level are increased in patient with Netherton syndrome. *B J Dermatol* 2008; 159: 733- 772.
 105. Adkinson NF, Younginger JW, Bursse WW, bochner BS, Holgate ST, Simons FER. Middleton's allergy: principles and practice. Philadelphia: Mosby 2003. ISBN 0-323-01425-9.
 106. Roitt I, Brosthoff J, Male D. Immunologia. Red. Żeromski S. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Wydawnictwo Medyczne Słotwiński Verlag Warszawa, Bremen 2002.
 107. Kim YM, Im JY, Han SH, Kang HS, Choi I. INF γ upregulates IL-18 gene expression via INF consensus sequence-binding protein and activator protein-1 elementes in macrophages. *J Immunol* 2000; 165: 3198- 205.
 108. Rooney T, Murphy E, Benito M, i inni. Synovial tissue interleukin 18 expression and the response to treatment in patients with inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 11: 1393- 1398.
 109. Companjen AR, Velden VH, Vooy A, Debetes R, Benner R, Prens EP. Human keratinocytes are major producers of IL-18: predominant expression of the unprocessed form. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11: 383-90.
 110. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin 18 is a unique cytokine regulates both Th1 and Th2 response. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 423- 74.
 111. Imboden M, Nicod L, Nieters A, Glaus E, Matyas G, Bircher J, i inni. The common G-allele of interleukin 18- single nucleotide polymorphism is a genetic risk factor for atopic asthma. The Spaldia Cohort study. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 211- 218.
 112. Dinarello CA. IL-18: a Th1-inducing, proinflammatory cytokine and a new member of IL-1 family. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 11- 24.
 113. Yoshimoto T, Tsutsui H, Tominaga K, Hoshino K, Okumara H, Akira S, i inni. IL-18, although antiallergic when administreted with Il-12, stimulates IL-4 and histamine release by basophils. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ;24: 1362- 13966.
 114. Yoshimoto T, Takeda K, Tanaka T, Ohkusu K, Kashiwamura S, Okamura H, Akira S, Nakanishi K. IL-12 upregulates IL-18 receptor expression on T cells, Th1 cells and B cells: synergism with Il-18 for INF γ production. *J Immunol* 1998; 161:

3400-7.

115. Cardoso SP, Keen L, Bidwell J. Identification of two novel single nucleotide polymorphisms in the promoter of the human interleukin 18 receptor α . *Eur J Immunogenet* 2004; 31:27-9.
116. Hoshino K, Tsutsui H, Kawai T, Takeda K, Nakanishi K, Takeda Y, i inni. Cutting edge: generation of IL-18 receptor deficient mice: evidence for IL-1 receptor related protein as an essential IL-18 binding receptor. *J Immunol* 1999; 162: 5041- 5044.
117. Torigoe K, Ushio S, Okura T, Kobayashi S, Taniani M, Kunikata T, i inni. Purification and characterisation of the human IL-18 receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 25737- 42.
118. Kashiwamura S, Okumara H. IL-18 and IL-18 receptor. *Nippon Rinsho* 1998; 56: 1798- 806.
119. Novick D, Schwartsburd B, Pinkus R, i inni. A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. *Cytokine* 2001; 14: 334–42.
120. Kim SH, Eisenstein M, Reznikov L, i inni. Structural requirements of six naturally occurring isoforms of the interleukin-18 binding protein to inhibit interleukin-18. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1190–5.
121. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okumara H. IL-18 regulates both Th1 and Th2 response. *Annu Rev Immunol* 2001; 1: 423- 74.
122. Kruse S, Kuehr J, Moseler M, Kopp MV, Kurz T, Deichmann KA, i inni. Polymorphisms in the IL-18 gene are associated with specific sensitization to common allergens and allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 11: 117- 22.
123. Kalina U, Ballas k, Koyama N, Kauschat D, Miething C, Arnemann J, i inni. Genomic organization and regulation of the human interleukin 18 gene. *Scand J Immunol* 2000; 52: 525- 530.
124. Yoshimoto T, Mizutani H, Tsutsui H, Noben-Trauth N, Yamanaka K, Tanaka M i inni. IL-18 induction of IgE: dependence on CD 4+ T cells, IL-4 and STAT6. *Nat Immunol* 2000; 1: 132-7.
125. Adachi O, Kawai T, Takeda K, Matsumoto M, Tsutsui H, Sakagami M, i inni. Targeted disruption of the MyD88 gene results in loss of IL-1 and IL-18-mediated function. *Immunity* 1998; 9: 143-150.
126. Kojima H, Takeuchi M, Ohta T, Nishida Y, Arai N, Ikeda M, i inni. Interleukin

- IL-18 activates the IRAK/TRAF6 pathway in mouse EL-4 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244: 183- 186.
127. Kojima H, Aizawa Y, Yanai Y, Nagaoka K, Takeuchi M, Ohta T, i inni. An essential role for NF-kappa B in IL-18 induced INF γ expression in KG-1 cells. *J Immunol* 1999; 162: 5063- 5069.
 128. Matsumoto S, Tsuji- Takayama K, Aizawa Y, Koide K, Takeuchi M, Ohta T, i inni. Interleukin 18 activates NF- kappa B in murine T helper type 1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234: 454- 457.
 129. Yu JJ, Tripp CS, Russell JH. Regulation and phenotype of an innate Th1 cell: role of cytokines and the p38 kinase pathway. *J Immunol* 2003; 171: 6112- 6118.
 130. Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. Interleukine 18. *J Leuk Biol* 2003; 73: 213.
 131. Shirakawa T, Deichmann KA, Izuhara K, Mao XQ, Adra CN, Hopkin JM. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. *Immunol Today* 2000; 2: 492-9.
 132. Kalina U, Kauschat D, Koyama N, Nuernberger H, Ballas K, Koschmieder S i inni. IL-18 activates STAT3 in the natural killer cell line 92, augments cytotoxic activity and mediates INF γ production by stress kinase p38 and by the extracellular regulated kinase p44erk-1 and p42erk-21. *J Immunol* 2000; 165: 1307-13.
 133. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF- β . *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 137-61.
 134. Li X, Stark G, NFkB-dependent signaling pathways. *Exp Hematol* 2002; 30: 285-96.
 135. Saklatvala J. Glucocorticoids: do we know how they work? *Arthritis Res* 2002; 4: 146- 50.
 136. Levy DE, Darnell JE. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 651- 62.
 137. Tanaka T, Tsutsui H, Yoshimoto T, Kotani M, Matsumoto M, Fujita A, i inni. Interleukin 18 is elevated in the sera from patients with atopic dermatitis and from atopic dermatitis model mice, NC/Nga. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 125: 236-40.
 138. Aral M, Arican O, Gul M, Sasmaz S, Kosturk S, Kastal U, i inni. The relationship between serum levels of total IgE, IL-18, IL-12, INF γ and disease severity in children with atopic dermatitis. *Communic Res* 2006;1-4

139. Shin H, Kim L, Park B, Choi Y, Park HS, Hong SJ. Association of interleukin 18 polymorphisms with specific IgE levels to mite allergens among asthmatic patients. *Allergy* 2005; 7: 900-6.
140. Pietrzak A, Janowski K, Chodorowska G, Michalak-Stoma A, Roliński J, Zalewska A I inni. Plasma interleukin 18 and dendritic cells in males with psoriasis vulgaris. 2007. Doi:10.1155(2007)61254
141. Cebeci N, Nuhoglu Y, Arslanoglu I, Erguven M, Agachan N. The role of IL-18 in Th1/Th2 balance in children. *Allergy Asthma Proc* 2006; 27: 365- 70.
142. Dinarello CA. Interleukin 18. *Methods* 1999; 19: 121- 32.
143. Fantuzzi G, Dinarello CA. IL-18 and IL-1 β : two cytokine substrates for ICE (caspase 1). *J Clin Immunol* 1999; 19: 1- 11.
144. Yoshimoto T, Okumara H, Tagawa A, Nakanishi K. IL-18 together with interleukin 12 inhibits IgE production by induction of INF γ production from activated B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3948- 3953.
145. Kim SH, Reznikov LL, Stuyt RJ, et al. Functional reconstitution and regulation of IL-18 activity by the IL-18R β chain. *J Immunol* 2001; 166: 148– 54.
146. Neumann D, Martin MU. Interleukin-12 upregulates the IL-18R β chain in BALB/c thymocytes. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 21: 635–42.
147. Yoshimoto T, Nakanishi K. Roles of IL-18 in basophils and mast cells. *Int Allergol* 2006; 55: 105- 13.
148. Hoshino T, Wiltout RH, Young HA. IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in Nk and T cell: a new potential role for IL- 18 in modulating the immune response. *J Immunol* 1999; 162: 5070-7.
149. Novak N, Bieber T, Leung DY. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 128- 139.
150. Kumano K, Nakao A, Nakajima H, Hayashi F, Kurimoto M, Okumara H, i inni. IL-18 enhances antygen- induced eosinophil recruitment into the Mouse Airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 873-78.
151. Wild JS, Sigounas A, Sur N, Siddiqui MS, Alam R, Kurimoto M, i inni. INF γ inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines and airway eosinophilia in mouse model of allergic asthma. *J Immunol* 2000; 164: 2701- 10.
152. Xu D, Trajkovic V, Hunter D, Leung BP, Schulz K, Gracie Ja, i inni. IL-18 induces the differentiation of Th1 or Th2 cells depending upon cytokine milieu and

- genetic background. *Eur J Immunol* 2000; 30: 3147- 3156.
153. Hoshino T, Yagita H, Ortaldo JR, Wilttrout RH, Young HA. In vivo administration of IL-18 can induce IgE production through Th2 cytokine induction and upregulation of CD40 ligand (CD154) expression on CD4+T cells. *Eur J Immunol* 2000; 30: 1998- 2006.
 154. Reddy P. Interleukin 18: recent advances. *Curr Opin Hematol* 2004; 11: 405- 10.
 155. Takubo T, Ohkura H, Kumara T, Ohta K, Yamane T, Hino M, i inni. Serum IL-18 leveles in patients with various hematological disorders. *Haematol* 2000; 30: 31-3.
 156. Takubo T, Okura H, Kumara T, Nishiki S, Kinoshita Y, Koh K. Human IL-18 bioactivity in hematological malignancies with highly eleveted serum IL-18 levels. *Acta Haematol* 2000; 103: 162- 4.
 157. Hacker E, Muller K, Whiteman DC, Pavey S, Hayward N, Walker G. Reduced expression of IL-18 is a marker of ultraviolet radiation-induced melanomas. *Int J Cancer* 2008; 123: 227- 31.
 158. Shibata M, Hirota M, Nozawa F, Okabe A, Kurimoto M, Ogawa M. Increased concentrations of plasma Il-18 in patients with hepatic dysfunction after hepatectomy. *Cytokine* 2000; 12: 1526- 30.
 159. Tsutsui H, Matsui K, Okamura H, Nakanishi K. Pathophysiological roles of IL-18 in inflammatory liver diseases. *Immunol Rev* 2000; 174: 192- 209.
 160. Bouzarrou N, Hassen E, Schovoere E, Stoll– Keller F, Bahri O, Gabbouj S, i inni. Association of IL-18 polymorphisms and plasma level with the outcome of chronic HCV infection. *J Med Virol* 2008; 80: 607- 14.
 161. Fassbender K, Mielke O, Bertsch T, Muehlhauser F, Hennerici M, Kurimoto M, Rossol S. Interferon γ inducing factor IL-18 and interferon γ in inflammatory CNS diseases. *Neurology* 1999; 53: 1104- 6.
 162. Gracie JA, Forsey RJ, Chan WL, Gilmour A, Leung BP, Greer MR. A proinflammatory role for il18 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1999; 104: 1393- 401.
 163. Yamamura M, Kawashima M, Taniai M, Yamauchi H, Tanimoto T, Kurimoto M, i inni. INF γ inducing activity of IL-18 in the joint with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:275-85
 164. Maeno N, Takei S, Nomura Y, Imanaka H, Hokonohara M, Miyata K. Highly eleveted serum levels of IL-18 in systemic juvenile idiopathic arthritis but not in

- other juvenile idiopathic arthritis subtype or in Kawasaki diseases. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2539- 2541.
165. Huang WX, Huang P, Hillert J. Increased expression of caspase-1 and interleukin-18 in peripheral blood mononuclear cells in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2004; 10: 482– 487.
 166. Karni A, Koldzic DN, Bharanidharan P, Khoury SJ, Weiner HL. IL-18 is linked to raised IFN- γ in multiple sclerosis and is induced by activated CD4(+) T cells via CD40–CD40 ligand interactions. *J Neuroimmunol* 2002; 125: 134–140.
 167. Losy J, Niezgoda A. IL-18 in patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2001; 104: 171–173.
 168. Nicoletti F, Di Marco R, Mangano K, Patti F, Reggio E, Nicoletti A, i inni. Increased serum levels of interleukin-18 in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 57: 342–344.
 169. Pizarro TT, Michie MH, Bentz M, Woraratanadharm J, Smith MF, Foley E, i inni. IL-18, a novel regulatory cytokine, is upregulated in Crohn's diseases; expression and localization in intestinal mucosal cells. *J Immunol* 1999; 162: 6829-35.
 170. Monteleone G, Trapasso F, Parrello T, Biancone L, Stella A, Iuilliano R, i inni. Bioactive IL-18 expression is up regulated in Crohn diseases. *J Immunol* 1999; 163: 143-7.
 171. Hu HZ, Li GL, Lim YK, Chan SH, Yap EH. Kinetics of interferon- γ secretion and its regulatory factors in the early phase of acute graft-versus-host disease. *Immunology* 1999; 98: 379–385.
 172. Fujimori Y, Takatsuka H, Takemoto Y, Hara H, Okamura H, Nakanishi K, i inni. Elevated interleukin (IL)-18 levels during acute graft-versus-host disease after allogenic bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 2000; 109: 652–657.
 173. Nakamura H, Komatsu K, Ayaki M, Kawamoto S, Murakami M, Uoshima N, i inni. Serum levels of soluble IL-2 receptor, IL-12, IL-18, and IFN- γ in patients with acute graft-versus-host disease after allogenic bone marrow transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 45– 50.
 174. Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine IL-18, IL-17, IL-12 and Th2 cytokine (IL-4) concentration in patient with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2000; 9: 589- 93.
 175. Wang D, Drenker M, Eiz-Vesper B, Werfel T, Wittmann M. Evidence of

- pathogenetic role of interleukin 18 in cutaneous lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3205- 15.
176. Grobmyer SR, Lin E, Lowry SF, Rivadeneira DE, Potter S, Barie PS, i inni. Elevation of IL-18 in human sepsis. *J Clin Immunol* 2000; 20: 212- 5.
 177. Endo S, Inada K, Yamada Y, Wakabayashi G, Ishikura H, Tanaka T, i inni. Interleukin 18 levels in patients with sepsis. *J Med* 2000; 31: 15-20.
 178. Sugawara I. Interleukin 18 and infectious diseases with special emphasis on diseases induced by intracellular pathogens. *Microbes Infect* 2000; 2: 1257- 63.
 179. Torre D, Speranza F, Mategani R, Pugliese A, Castelli F, Basilico C, i inni. Circulating levels of IL-18 in adult and pediatric patients with HIV-infection. *AIDS* 2000: 2211- 2.
 180. Ida A, Tsuji Y, Muranaka J, Kanazawa R, Nakata R, Adachi S, i inni. IL-18 in pregnancy, the elevation of IL-18 in maternal peripheral blood during labour and complicated pregnancies. *J Reprod Immunol* 2000; 47: 65- 74.
 181. Tired L, Godefroy T, Lubos E, Nicaud V, Tregouet DA, Barbaux S, i inni. Genetic analysis of the interleukin-18 system highlights the role of the interleukin-18 gene in cardiovascular disease. *Circulation* 2005; 112: 643–650.
 182. El-Mezzein REH, Matsumoto T, Nomiya H, Miike T. Increased secretion of IL-18 in vitro by peripheral blood mononuclear cells of patients with bronchial asthma and atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 2001; 126: 193– 8.
 183. Wong CK, Ho CY, Ko FWS, i inni. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-g, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol* 2001; 125: 177– 83.
 184. Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, i inni. IL-18 might reflect disease activity in mild and moderate asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 331– 6.
 185. Verhaeghe B, Gevaert P, Holtappels G, Lukat KF, Lange B, Van Cauwenberge P, i inni. Up- regulation of IL-18 in allergic rhinitis. *Allergy* 2002; 57: 825- 30.
 186. Hon KLE, Leung TF, Ma KC, Wong CK, Wan H, Lam CWK. Serum concentration of IL-18 correlates with disease extent in young children with atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol* 2004; 21: 619– 22.
 187. Yoshizawa Y, Nomauguchi H, Izaki S, Kitamura K. Serum cytokine levels in atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2002; 27: 225– 9.
 188. Lebel-Binay S, Berger A, Zinzindohou F, Cugnenc P, Thiounn N, Friedman WH, Pages F. Interleukin 18 biological properties and clinical implications. *Eur*

- Cytokine Netw 2000; 11: 15-26.
189. Dzierzanowska- Fangrat K, Michalkiewicz J, Cielecka- Kuszyk J, Nowak M, Celinska- Cedro D, Rózynek E, i inni. Enhanced gastric IL-18 mRNA expression in *Helicobacter pylori*- infected children is associated with macrophage infiltration, IL-8 and IL1 β mRNA expression. Eur J Gastrol Hepatol 2008; 20: 314- 9.
 190. Gołab J. Interleukin 18- interferony inducing factor- a novel player in tumor immunotherapy? Cytokine 12:332-8
 191. Osaki T, Hashimoto W, Gambotto A, Okamura H, Robinson PD, Kurimoto M, i inni. Potent antitumor effects mediated by local expression of the mature form of the interferon γ inducing factor, interleukin 18. Gene Ther 1999; 6: 808-15
 192. Robertson MJ, Kirkwood JM, Logan TF, Koch KM, Kathman S, Kirby LC, Bell WN, Thurmond LM, Weisenbach J, Dar MM. A dose-escalation study of recombinant human interleukin-18 using two different schedules of administration in patients with cancer. Clin Cancer Res. 2008; 14(11): 3462- 9.
 193. Modrzyński M, Rapiejko P. Miejsce IL-18 w chorobach alergicznych. Terapia 2001; 3: 43- 44.
 194. Gangemi S, Merendino A, Guarneri F, i inni. Serum level of interleukin 18 and s-ICAM-1 in patients affected by psoriasis: preliminary considerations. J Eur Acad Derm Venerol 2003; 17: 42- 46.
 195. Wollenberg A, Wagner S, Gunther S, i inni. Plasmacytoid dendritic cells: a new cutaneous dendritic cells subset with distinct role in inflammatory skin diseases. J Invest Dermatol 2002; 5: 106-1102.
 196. Gatti S, Beck J, Fantuzzi G, Bartfai T, Dinarello CA. Effect of interleukin-18 on mouse core body temperature. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2002; 282: 702–9.
 197. Li S, Goorha S, Ballou LR, Blatteis CM. Intracerebroventricular interleukin-6, macrophage inflammatory protein-1 β and IL-18: pyrogenic and PGE(2)-mediated? Brain Res 2003; 992: 76–84.
 198. Reznikov LL, Kim SH, Westcott JY, i inni. IL-18 binding protein increases spontaneous and IL-1-induced prostaglandin production via inhibition of IFN- γ . Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 2174– 9.
 199. Lee JK, Kim SH, Lewis EC, Azam T, Reznikov LL, Dinarello CA. Differences in signaling pathways by IL-1 β and IL-18. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 8815–20.

200. Zhang Y, Lefort J, Kearsey V, Lapa e Silva JR, Cookson WO, Vargaftig BB. A genom-wide screen for asthma-associated quantitative trait loci in a mouse model of allergic asthma. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 601-5.
201. Sims JE. IL-1 and IL-18 receptor and their extended family. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 117- 122.
202. Tamura K, Fukuda Y, Sashio H, i inni. IL-18 polymorphism is associated with an increased risk of Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2002; 37: 111–6.
203. Glas J, Torok HP, Tonenchi L, Kapser J, Schiemann U, Muller-Myhsok B, i inni. Association of polymorphisms in the interleukin-18 gene in patients with Crohn's disease depending on the CARD15(NOD2 genotype. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 1031– 1037.
204. Zhernakova, Festen EM, Frankel L, Trynka G, van Diemen CC, Monsuur AJ i inni. Genetic analysis of innate immunity in Crohn's diseases and ulcerative colitis identifies two susceptibility loci harboring CARD and IL18RAP. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 1202- 10.
205. Kretowski A, Mirończuk K, Karpińska A, i inni. Interleukin-18 promoter polymorphisms in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 3347– 9.
206. Ide A, Kawasaki E, Abiru N, Sun F, Kobayashi M, Fukushima T, i inni. Association between IL-18 gene promoter polymorphisms and CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Japanese patients with type 1 diabetes. *J Autoimmun* 2004; 22: 73–78.
207. Szeszko JS, Howson JM, Cooper JD, Walker NM, Twells RC, Stevens HE, i inni. Analysis of polymorphisms of the interleukin-18 gene in type 1 diabetes and Hardy–Weinberg equilibrium testing. *Diabetes* 2006; 55: 559–562.
208. Dong GP, Yu ZS, Liang L, Zou CC, Fu JF, Wang CL. IL-18 gene promoter -137 C/G and -607C/A polymorphisms in Chinese Han children with type 1 diabetes mellitus. *Int J Immunogenet* 2007; 34: 75- 9.
209. Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol* 2001; 112: 146–152.
210. Sivalingam SP, Yoon KH, Koh DR, Fong KY. Single-nucleotide polymorphisms of the interleukin-18 gene promoter region in rheumatoid arthritis patients: protective effect of AA genotype. *Tissue Antigens* 2003; 62: 498–504.
211. Gracie JA, Koyama N, Murdoch J, Field M, McGarry F, Crilly A et al. Disease

- association of two distinct interleukin-18 promoter polymorphisms in Caucasian rheumatoid arthritis patients. *Genes Immun* 2005; 6: 211–216.
212. Pawlik A, Kurzawski M, Czerny B, Gawrońska- Szklarz B, Drozdziak M, Herczyńska M. Interleukin-18 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 2006; 67: 415– 418.
 213. Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, i inni. Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy* 2004; 59: 845– 849.
 214. Sugiura T, Maeno N, Kawaguchi Y, Takei S, Imanaka H, Kawano Y, i inni. A promoter haplotype of the interleukin-18 gene is associated with juvenile idiopathic arthritis in the Japanese population. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: 60-5.
 215. Reddy P, Teshima T, Hildebrandt G, Williams DL, Liu C, Cooke KR, i inni. Pretreatment of donors with interleukin-18 attenuates acute graft-versus-host disease via STAT6 and preserves graft-versus-leukemia effects. *Blood* 2003; 101: 2877– 2885.
 216. Cardoso SM, DeFor TE, Tilley LA, Bidwell JL, Weisdorf DJ, MacMillan ML. Patient interleukin-18 GCG haplotype associates with improved survival and decreased transplant-related mortality after unrelated-donor bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 2004; 126: 704–710.
 217. Hsueh KC, Lin YJ, Chang JS, Wan L, Tsai YH, Tsai CH, Tsai FJ. Influence of interleukin 18 promoter polymorphisms in susceptibility to Kawasaki disease in Taiwan. *J Rheumatol.* 2008; 35(7): 1408-13.
 218. Higa S, Hirano T, Mayumi M, Hiraoka M, Ohshima Y, Nambu M, i inni. Association between interleukin-18 gene polymorphism 105A/C and asthma. *Clin Exp Allergy* 2003; 8: 1097- 1102.
 219. Lee CC, Lin WY, Wan L, Tsai Y, Tsai CH, Huang CM, i inni. Association of interleukin 18 gene polymorphism with asthma in Chinese patients. *J Clin Lab Anal* 2008; 22: 39- 44.
 220. Zhu G, Whyte MK, Vestbo J, Carlsen K, Carlsen KH, Lenney W, Silverman M, Helms P, Pillai SG. Interleukin 18 receptor 1 gene polymorphisms are associated with asthma. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(9): 1083-90.
 221. Reijmerink N, Postma SD, Bruinenberg M, Nolte M, Meyers DA, Bleecker ER, i inni. Association of IL1RL1, IL18R1, and IL18RAP gene cluster polymorphisms with asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 3: 651-3.

222. Sebelova S, Izakovicova- Hola L, Stejskalova A, Schuller M, Znojil W, Vasku A. Interleukin 18 and its three polymorphisms relating to allergic rhinitis. *J Hum Genet* 2007; 52: 152- 158.
223. Van Reijssen FC, Felius A, Wauters EA, Bruijnzeel-Koomen CA, Koppelman SJ. T-cell reactivity for a peanut-derived epitope in the skin of young infant with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 207- 9.
224. Sicherer SH, Sampson HA. Food hypersensitivity and atopic dermatitis. Pathophysiology, epidemiology, diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 114- 122.
225. Braun- Falco O., Plewig G., Wolff H.H., Burgdorf W.H.C.: *Dermatologia*. Czelej, Lublin 2001.
226. Tuft L. Importance of inhalant allergens in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1949; 12: 211- 219.
227. Harving H, Korsgaard J, Dahl R, Beck HI, Bjerring P. House dust mites and atopic dermatitis: a case study on the significance of house dust mites as etiologic allergens in atopic dermatitis. *Ann Allergy* 1990; 65: 251- 5.
228. Elias P. Skin barrier function. *Curr Allergy and Asthma Rep* 2008; 8: 299-305.
229. Steigert T, Borelli S. Significance of climatic factors in the treatment of atopic eczema. *Red. Rizicka T, Ring J, Przybilla B. Berlin: Springer Verlag* 1991; 415-428
230. Leung DYM, Harbeck R, Bina P, Reiser RF, Yang E, Norris DA. Presence of IgE antibodies to staphylococcal exotoxins on the skin of patient with atopic eczema. Evidence of a new group of allergens. *J Invest Dermatol* 1993; 92: 1374- 80.
231. Verhagen J, Akids M, Traidl-Hoffmann C, i inni. Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis skin. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 176- 83.
232. Bunikowski R, Mielke M, Skarabis H, i inni. Prevalence and role of serum IgE antibodies to the *Staphylococcus aureus*- derived superantigens SEA and SEB in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 119- 24.
233. Williams REA, Gibson AG, Atchinson TC, i inni. Assesment of contact- plate sampling technique and subsequent quantitative bacterial studies in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1990; 123: 493- 501.

234. Nomura I, Tanaka K, Tomita H, i inni. Evaluation of the staphylococcal exotoxins and their specific IgE in childhood atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 441- 6.
235. Bunikowska R, Mielke ME, Skarabis H, i inni. Evidence for a disease-promoting effect of *Staphylococcus aureus*- derived exotoxin in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 814- 81.
236. Breuer K, Wittmann M, Bosche B, Kapp A, Werfel T. Severe atopic dermatitis is associated with sensitization to staphylococcal enterotoxin B. *Allergy* 2000; 55: 551-555.
237. Cardona ID, Cho SH, Leung DY. Role of bacterial superantigens in atopic dermatitis: implications for future therapeutic strategies. *Am J Clin Dermatol* 2006; 7: 273- 9.
238. Novak N, Allam JP, Bieber T. Allergic hyperactivity to microbial components: a trigger factor of intrinsic atopic dermatitis?. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 215-16.
239. Valenta R, Natter S, Seiberler S, i inni. Molecular characterization of an autoallergen, Hom s 1, identified by serum IgE from atopic dermatitis patients. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 1178- 83.
240. Mittermann I, Aichberger KJ, Bänder R, Mothes N, Renz H, Valenta R. Autoimmunity and atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004; 4: 367-71.
241. Aichberger KJ, Mittermann I, Reininger R, i inni. Hom s 4, an IgE-reactive autoantigen belonging to a new subfamily of calcium-binding proteins, can induce Th cell type 1-mediated autoreactivity. *J Immunol* 2005; 175: 1286- 94.
242. Schmid-Grendelmeier P, Flückiger S, Disch R, i inni. IgE- mediated and T cell-mediated autoimmunity against manganese superoxide dismutase in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1068-75.
243. Keller P. Beitrag zu den Beziehungen von asthma und Ekzem. *Arch Derm Syph Berl* 1924; 148: 82.
244. Mothes N, Niggemann B, Jenneck C, i inni. The cradle of IgE autoreactivity in atopic eczema lies in early infancy. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 706- 9.
245. Kemmett D, Tidman MJ. The influence of the menstrual cycle and pregnancy on atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1991; 125: 59- 61.

246. Bender BG. Psychologic dysfunction associated with atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin N Am* 2002; 22: 43- 46.
247. McKenna Sp, Dowar LC. Quality of life of children with atopic dermatitis and their families. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8: 228- 31.
248. Warschburger P, Buchholtz H, Petermann F. Psychological adjustment in parents of young children with atopic dermatitis: which factors predict parental quality of life? *Br J Dermatol* 2004; 150: 304– 311.
249. Lundberg L, Johannesson M, Silverdahl M, Hermansson C, Lindberg M. Health-related Quality of Life in Patients with Psoriasis and Atopic Dermatitis Measured with SF-36, DLQI and a Subjective Measure of Disease Activity. *Acta Derm Venereol* 2000; 80: 430- 434
250. Friedman J, Reed S, Weinfurt K, Kahler K, Walter E, Schulman K. Parents' reported preference scores for childhood atopic dermatitis disease states. *BMC Pediatrics* 2004, 4:21 doi:10.1186(1471-2431-4-21).
251. Giannetti A, Fantini F, Cimitan A, Pincelli C. Vasoactive intestinal polypeptide and substance P in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol* 1992; 176: 90-2.
252. Jabłońska S, Majewski S. Choroby skóry i choroby przenoszone drogą płciową. Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2006.
253. Tanaka A, Matsuda H. Expression of nerve growth factor in ichty skin of atopics Nc/Nga Tnd Mice. *J Med Vet Sci* 2005; 67: 915- 9.
254. Takaoka A, Arai I, Sugimoto M, Honma Y, Futaki N, Nakamura A, Nakaike S. Involvement of IL-31 on scratching behavior in NC/Nga mice with atopic-like dermatitis. *Exp Dermatol* 2006; 15: 161–167.
255. Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, i inni. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 411- 7.
256. Paus R, Schmelz M, Bíró T, Steinhoff M. Frontiers in pruritus research: scratching the brain for more effective itch therapy. *J Clin Invest* 2006; 116: 1174- 86.
257. Neis MM, Peters B, Dreuw A, i inni. Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 930- 7.
258. Sugama S, Conti B. Interleukin 18 and stress. *Brain Res Rev* 2008; 58: 85-9.
259. Sugarmann JL, Fluhr JW, Fowler AJ i inni. The objective severity assessment of

- atopic dermatitis score: an objective measure using permeability barrier function and stratum corneum hydration with computer-assisted estimates for extent of diseases. *Arch Dermatol* 2003; 139: 1417- 22.
260. Seidenari S, Giusti G: Objective assessment of the skin of children affected by atopic by atopic dermatitis: a study pH capacitance and TEWL in eczematous and clinically uninvolved skin. *Acta Derm Venerol* 1995; 75: 429- 433.
 261. Proksch E, Folster-Holst R, Jensen JM. Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema. *J Dermatol Sci* 2006; 43: 159- 169.
 262. Chamlin SL, Kao J, Frieden IJ, et al. Ceramide dominant barrier repair lipids alleviate childhood atopic dermatitis: changes in barrier function provide a sensitive indicator of disease activity. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47: 198- 208.
 263. Leung DYM, Soter NA. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: 1-12.
 264. Elias PM, Wood LC, Feingold KR: Epidermal pathogenesis of inflammatory dermatoses. *AM J Contact Dermatol* 1999; 10: 119-126.
 265. Elias PM, Feingold KR. Does the tail wag the dog? Role of the barrier in the pathogenesis of inflammatory dermatoses and therapeutic implications. *Arch Dermatol* 2001; 137: 1079- 1081.
 266. Taieb A. Hypothesis: from epidermal barrier dysfunction to atopic dermatitis. *Contact Dermatitis* 1999; 41: 177- 80.
 267. Berardesa E, Disorder of skin barrier: clinical implication *JEADV* 2002; 16: 559- 561
 268. Elias PM. Epidermal barrier function: intercellular lamellar lipid structures, origin, composition and metabolism. *J Control Release* 1991; 15: 199-208.
 269. Melnik B Disturbances of antimicrobial lipids in atopic dermatitis. *JDDG*; 2000; 4: 114–123
 270. Schäfer L, Kragballe K. Abnormalities in epidermal lipid metabolism in patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 10–15.
 271. Goldstein M, Abramovits W. Ceramides and the stratum corneum: structure, function, and new methods to promote repair *J Invest Dermatol* 2003, 42, 256–259.
 272. Palmer CN, Irvine AD, Terron- Kwiatkowski A, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin predispose to atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38: 441- 6.
 273. Weidinger S, Illig T, Baurecht H, et al. Loss- of function variation within the

- filagrin gene predispose to atopic dermatitis with allergi sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 214- 9.
274. Hudson TJ. Skin barrier function and allergic risk. *Nat Genet* 2006; 38: 399- 400.
 275. Kowalewski Cezary. Budowa i czynność bariery naskórkowej i jej zaburzenia w atopowym zapaleniu skóry. III Zimowe Warsztaty Sekcji Dermatologicznej PTA.
 276. Brattsand M, Stefansson K, Lundh C, i inni. A proteolytic cascade of kallikreins in the stratum corneum, *J Invest Dermatol* 2005; 124: 198- 400.
 277. Miller Sj, Aly R, Shinefeld HR, Elias PM. In vitro and in vivo anistaphylococcal activity of human stratum corneum lipids. *Arch Dermatol* 1998; 124: 209-15.
 278. Fluhr JW, Elias PM. Stratum korneum pH: Formation and function of the acid mantel. *Exog Dermatol* 2002; 1: 163-175.
 279. Biebel DJ, Aly R, Shinefield HR. Antimicrobial activity of sphingosines. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 269- 273.
 280. Aberg KM, Man MQ, Gallo RL, i inni Co- regulation and interdependence of the mammalian epidermal permeability and antymicrobial barriers *J InVest Dermatol* 2008; 128: 917- 25.
 281. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, i inni. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2002; 347: 1151- 1160.
 282. Nomura I, Goleva E, Howell MD, i inni. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol* 2003; 171: 3262- 69.
 283. Hanifin JM. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 211- 222.
 284. Williams HC, Burney PGJ, Pembroke AC, Hay RJ. Validation of the UK diagnostic criteria for atopic dermatitis in a population setting. *Br J Dermatol* 1996; 135: 12-17.
 285. Ring J. *Allergy in Practice*. Springer, Heidelberg 2005.
 286. Cork MJ, Britton J, Butler L, i inni. Comparison of parent knowledge, therapy utilization and severity of atopic eczema before and after explanation and demonstration of topical therapies by a specialist dermatology nurse. *Br J Dermatol* 2003; 149: 582-9.
 287. Numerof RP, Asadullah K. Cytokine and anti-cytokine therapies for psoriasis and atopic dermatitis. *Biodrugs* 2006; 20: 3-103.
 288. Wolff K, Stuetz A. Pimecrolimus for the treatment of inflammatory skin disease. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5: 643- 55.

289. Meagher LJ, Wines NY, Cooper AJ. Atopic dermatitis: review of immunopathogenesis and advanced in immunosuppressive therapy. *Australas J Dermatol* 2002; 43: 247- 54.
290. Wolska H. fototerapia (UV) w dermatologii. Wydawnictwo Czelej, Lublin 2006
291. Torello A, Harto A, Sendagorta E, i inni. Interferon -alpha therapy in atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol* 1992; 72: 370- 2.
292. Paukkonen D, Fraki j, Horsmanheimo M. Interferon alpha treatment decreases the number of blood eosinophils in patient with severe atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol* 1993; 73: 141- 2.
293. Noh G, Lee KY. Successful interferon alpha therapy in atopic dermatitis of Besnier's prurigo pattern with normal serum IgE and blood eosinophil fraction: randomized case-controlled study. *Cytokine* 2001; 13: 124-8.
294. Shida K, Koizumi H, Shiratori I, Matsumoto M, Kikkawa S, Tsuji S, i inni. High serum levels of additional IL-18 forms May be reciprocally correlated with IgE levels In patients with atopic dermatitis. *Immunology Letters* 2001; 7: 16- 175.
295. Ando M, Shima M. Serum interleukins 12 and 18 and immunoglobulin E concentration and allergic symptoms in Japanese schoolchildren. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2007; 17: 14- 9.
296. Park S, Youn YH. Clinical significance of serum interleukin 18 concentration in the patient with atopic dermatitis. *Korean J Lab Med* 2007; 27: 128- 32.
297. Koning H, Neijens HJ, Baert MRW, Oranje AP, Savelkoul HFJ. T cell subset of cytokines in allergic and non allergic children. Analysis of IL-4, INF γ and IL-13 mRNA expression and protein production. *Cytokine* 1997; 416- 426
298. Katagiri, K; Itami, S; Hatano, Y; Takayasu, S. Increased levels of IL-13 mRNA, but not IL-4 mRNA, are found in vivo in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with atopic dermatitis (AD). *Clin and Exp Immunol*; 1997; 108: 289– 294.
299. Laske, N; Niggemann, B. Does the severity of atopic dermatitis correlate with serum IgE levels? *Ped Allergy Immunol* 2004; 15: 86– 88.
300. Kirino M, Kirino Y, Takeno M, Nagashima Y, Takahashi K, Kobayashi M, i inni. Heme oxygenase 1 attenuates the development of atopic dermatitis-like lesions in mice: implications for human disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122: 290-7.
301. Wittman M, Purwar R, Hartmann C, Gutzmer R, Werfel T. Human keratinocytes respond to interleukin-18: implication for the course of chronic inflammatory skin

- diseases. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 1225– 33.
302. Dale M, Nicklin MJ. Interleukin-1 receptor cluster: gene organization of IL1R2, IL1R1, IL1RL2 (IL-1Rrp2), IL1RL1 (T1(ST2), and IL18R1 (IL-1Rrp) on human chromosome 2q. *Genomics* 1999; 57: 177- 9.
303. Shimizu M, Matsuda A, Yanagisawa K, Hirota T, Akahoshi M, Inomata N, i inni. Functional SNPs in the distal promoter of the ST2 gene are associated with atopic dermatitis. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 2919-27.
304. Lee HM, Park SA, Chung SW, Woo JS, Chae SW, Lee SH, i inni. Interleukin 18/-607 gene polymorphism in allergic rhinitis. *Int Ped Othorinol* 2006; 70: 1085-1088.
305. Lachheb J, Chelbi H, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. Promoter polymorphism of the IL-18 gene is associated with atopic asthma in Tunisian children. *Int J Immunogenet* 2007; 35: 63-68.
306. Kuo CT, Leiden JM,. Transcriptional regulation of T lymphocyte development and function. *Annu Rev Immunol* 1999; 104: 85-3.
307. Ray A, Cohn L. Th2 cells and GATA 3 in asthma: new insights into the regulation of airway inflammation. *J Clin Invest* 1999; 104: 85- 93.
308. Beyer K, Nickel R, Freidholf R, i inni. Association and linkage of atopic dermatitis with chromosome 13q12-14 and 5q31-33 makers. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 906- 8.
309. Bradley M, Soderhall C, Luthman H, i inni. Susceptibility loci for atopic dermatitis on chromosome 3, 13, 15, 17 and 18 in a Swedish population. *Human Mol Genet* 2002; 11: 153- 48.
310. Chang YT, Lee RW, Yu CW, Liu HN, Lin MW, Huang CH, i inni. No association of cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 419- 423.