

Przydatność klinicznej oceny nadwrażliwości kontaktowej w określeniu stopnia zjawiska fotoimmunosupresji

Usefulness of visual score in assessment of ultraviolet - induced suppression of contact hypersensitivity response

JOANNA NARBUTT ^{1/}, MAŁGORZATA SKIBIŃSKA ^{2/}, ALEKSANDRA LESIAK ^{1/}, JANUSZ ŚMIGIELSKI ^{3/}, ANNA SYSA-JĘDRZEJOWSKA ^{1/}, ANNA WOŹNIACKA ^{1/}

^{1/} Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii UM w Łodzi, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź

^{2/} Department of Dermatology, Basildon University Hospital Nethermayne, SS19 5NL Essex, United Kingdom

^{3/} Zakład Informatyki i Statystyki Medycznej UM w Łodzi

Wprowadzenie. Badania na modelach zwierzęcych i na zdrowych ochotnikach wykazały, że promieniowanie UV jest przyczyną uruchomienia mechanizmów odpowiedzi immunologicznej, czego wyrazem jest m.in. zahamowanie reakcji nadwrażliwości kontaktowej (*contact hypersensitivity*, CHS). Do tej pory jednak nie określono stopnia zahamowania reakcji CHS u ludzi przewlekłe ekspozowanych na subrumieniotwórcze dawki promieniowania imitującego światło słoneczne (*solar simulated radiation*, SSR).

Cel pracy. Ustalenie przydatności klinicznej oceny reakcji CHS w określaniu supresji układu immunologicznego wywołanego przez układową ekspozycję na niskie dawki promieniowania SSR.

Material i metody. W przeprowadzonym przez 2 (33 osoby), 10 (34 osoby) i 30 dni (33 osoby) promieniowaniem SSR (dzienna dawka wynosiła 1,2 standardowej dawki rumieniotwórczej). Grupę kontrolną stanowiło 40 osób. Wszyscy wolontariusze w 24 godziny po ostatnim naświetleniu byli uczuleni difenylocyklopropenonem (DPCP), a następnie po 3 tygodniach wywoływano u nich reakcję CHS, stosując zwiększające stężenia DPCP. Nasilenie reakcji CHS oceniano po 48 godzinach, stosując kliniczną skalę, a także mierząc wartości rumienia i pigmentacji miernikiem UV Optimize 555.

Wyniki. Wartości rumienia i pigmentacji nie różniły się istotnie statystycznie w poszczególnych grupach, natomiast stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy nasileniem reakcji CHS ocenianą w miejscu aplikacji najniższego stężenia DPCP (0,4µg) a liczbą dni naświetlań.

Wnioski. Wykazano, że niskie, subrumieniotwórcze dawki promieniowania SSR hamują reakcję CHS, a efekt ten jest zależny od dawki kumulacyjnej. Ponadto potwierdzono wysoką przydatność klinicznej oceny reakcji CHS w określaniu stopnia zahamowania odpowiedzi immunologicznej indukowanego przez promieniowanie ultrafioletowe.

Alergia Astma Immunologia, 2005, 10(1), 32-38

Słowa kluczowe: promieniowanie ultrafioletowe, reakcja nadwrażliwości kontaktowej, fotoimmunosupresja, difenylocyklopropenon

Introduction. Literature data indicate that UV radiation causes alteration both in murine and human immune system, assessed by suppression of contact hypersensitivity (CHS). To date, there is no study which determines suppression of CHS response in human beings exposed to low chronic doses of solar simulating radiation (SSR).

Aim of the study. To establish if clinical score of CHS intensity is useful in determining of suppression of human UV-mediated immunity.

Material and methods. 140 healthy volunteers took part in our study, they were whole-body irradiated for 2 (33 subjects), 10 (34 subjects) or 30 (33 subjects) consecutive days with a dose of 1.2 standard erythema dose (SED) on each occasion. Additionally 40 individuals were controls. All the volunteers were sensitized with diphenylcyclopropenone (DPCP) 24 h after final exposure and 3 weeks later elicitation phase of CHS response was performed using different titrations of DPCP. At 48 h elicitation sites were evaluated. For assessment of CHS response clinical score and erythema and pigmentation meter (reflectance device-Optimize 555) were used.

Results. Erythema and pigmentation values did not differ between the examined groups, however a significant negative correlation between clinical score and number of days of irradiation was found at lowest challenge titration of DPCP (0.4µg).

Conclusions. Our data indicate that low, chronic doses of SSR suppress CHS response and this is cumulative, dose-dependent effect. More over we revealed that clinical score for assessment of CHS is a very useful method in evaluation of UV-mediated suppression of human immune system.

Alergia Astma Immunologia, 2005, 10(1), 32-38

Key words: ultraviolet radiation, contact hypersensitivity, photoimmunosuppression, diphenylcyclopropenone

Promieniowanie ultrafioletowe (*ultraviolet radiation*, UVR), najpowszechniejszy i być może najważniejszy czynnik środowiskowy oddziałujący na człowieka, dzieli się na pasmo w zakresie UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) i UVC (200-280 nm). Promienie UVC są całkowicie pochłaniane przez warstwę ozonową, stąd też w warunkach fizjologicznych nie wywołują one efektów biologicznych.

Ekspozycja skóry na promieniowanie ultrafioletowe powoduje rozwój rumienia, obrzęku, uczucie gorąca i ból. Wpływa także na wiele funkcji biologicznych komórek naskórka: keratynocytów, komórek Langerhansa (KL), melanocytów, ale również skóry właściwej: fibroblastów, monocytów oraz komórek śródbłonna [1]. Przeprowadzane badania doświadczalne wykazały, że wszystkie z wymienionych komórek, ale również komórki nacieku zapalnego, tworzącego się pod wpływem UV, wydzielają cytokiny (m.in. IL-1, IL-6, TNF-alfa, IL-10), chemokiny, czynniki wzrostu oraz neurohormony o działaniu prozapalnym i immunosupresyjnym [2-7]. Wykazano, że umiarkowane i ostre dawki UVR, zarówno w zakresie promieniowania B, jak i A mają zdolność do wywoływania stanu immunosupresji, a także indukcji tolerancji immunologicznej [8]. Ocena rozwoju/zahamowania reakcji nadwrażliwości kontaktowej (*contact hypersensitivity*, CHS) stała się „złotym standardem” w określaniu zaburzeń stanu immunologicznego organizmu wywołanych przez promieniowanie ultrafioletowe [9]. Okazało się, że jest to prosta i wysoce przydatna metoda, pozwalająca na określenie stopnia zahamowania komórkowej odpowiedzi immunologicznej. Reakcja nadwrażliwości kontaktowej zachodzi przede wszystkim dzięki aktywności komórek Langerhansa, tj. profesjonalnych komórek prezentujących antygen, znajdujących się w naskórku. Po wychyceniu przez KL nałożonego na skórę haptenu i jego przetworzeniu, komórki te migrują do regionalnych węzłów chłonnych, a następnie prezentują antygen limfocytom T i uruchamiają komórkową odpowiedź immunologiczną [10].

Ekspozycja skóry na UV prowadzi do wzmożonej deplecji KL z naskórka, co przyczynia się do zahamowania rozwoju reakcji CHS w wyniku naświetlania [11]. UV zmniejsza również ekspresję cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej (MHC klasy II) i aktywność ATPazy w KL [12], a zahamowanie ekspresji ICAM-1 pod jego wpływem może odpowiadać za upośledzony kontakt KL z limfocytami T. To zjawisko wywołane jest również, wg niektórych autorów, zmniejszoną ekspresją cząsteczek kostymulujących (CD80/86) na powierzchni KL spowodowaną UVR [13,14]. Odmiennie wyniki badań uzyskali Laihia i Jansen [15], którzy stwierdzili, że w warunkach *in vivo* naświetlanie ludzkiej skóry rumieniotwórczymi dawkami promieniowania imitującego promieniowanie słoneczne (*solar simulated radiation*, SSR) powoduje zwiększenie ekspresji zarówno CD80, jaki i CD86. Poza tym w hamowaniu reakcji CHS odgrywają

istotną rolę również interleukiny wydzielane przez keratynocyty, przede wszystkim TNF- α i IL-10 [16], a także zachodzące pod wpływem UV uszkodzenie DNA z następowym tworzeniem się dimerów tymidynowych oraz 6-4 fotoproduktów [17].

W ostatnich latach coraz więcej badań dotyczy oceny właściwości SSR i jego wpływu na modulację układu immunologicznego u zdrowych ludzi, stąd też coraz więcej doświadczeń wykonuje się na zdrowych ochotnikach. W większości jednak przeprowadzonych do tej pory eksperymentów stosowano wysokie i pojedyncze dawki SSR, rzędu 1-3 MED (minimalna dawka rumieniotwórcza, *minimal erythema dose*, MED) [18-20]. W jednym z badań wykazano, że dawki mniejsze od 1 MED (0,25-0,5 MED) promieniowania SSR są już w stanie zahamować miejscowo reakcję nadwrażliwości kontaktowej [20].

Badania nadwrażliwości kontaktowej przeprowadzane są z użyciem różnorodnych haptenu, najczęściej: 1-chloro-2,4-dwunitrobenzenu (DNCB) i difenylocyklopropenu (DPCP) [19]. DPCP jest niemutagennym alergenem kontaktowym, nie występującym w naturalnym środowisku człowieka, stąd też stał się najczęściej stosowanym haptenu w wywoływaniu doświadczalnej reakcji CHS.

Celem naszej pracy było określenie przydatności klinicznej oceny nadwrażliwości kontaktowej w ocenie stopnia zahamowania układu immunologicznego wywołanego przez wlewką ekspozycją na niskie dawki promieniowania SSR.

PACJENCI I METODY

Pacjenci

Badaną grupę stanowiło 140 zdrowych wolontariuszy w wieku 19-51 lat (średnia 25.5 lat) z II lub III fototypem skóry, ocenianym wg Fitzpatricka [21]. Wolontariusze nie przyjmowali żadnych leków. Do badania nie były włączane osoby, które w okresie 2 miesięcy przed rozpoczęciem eksperymentu korzystały z solariów bądź uległy nadmiernej ekspozycji słonecznej. W celu zmniejszenia wpływu promieniowania słonecznego na wyniki planowanego badania, eksperyment przeprowadzono w miesiącach zimowych (listopad 2002 - luty 2003). Każdy wolontariusz uzyskał informację i wyraził pisemną zgodę na badanie, na które wcześniej uzyskano akceptację lokalnej Komisji Bioetyki UM w Łodzi.

Przed rozpoczęciem badania każdy z wolontariuszy przeszedł badanie lekarskie i miał wykonane podstawowe badania laboratoryjne (morfologia krwi, badanie ogólne moczu).

100 wolontariuszy zostało podzielonych na trzy grupy i poddanych naświetlaniom całego ciała przez: 2 kolejne dni (33 osoby: 17 kobiet, 16 mężczyzn; średni wiek 26,1 lat – grupa 1), 10 kolejnych dni (34 osoby: 13 kobiet, 21 mężczyzn; średni wiek 24,3 lat – grupa 2) i 30 kolejnych dni (16 kobiet, 17 mężczyzn, średni wiek 26,7 lat – grupa 3).

Dzienna dawka promieniowania wynosiła 1,2 SED (*standard erythema dose*; 1 SED odpowiada dawce 100 J/cm²) [22].

Grupę kontrolną (grupa 4) stanowiło 40 nienaświetlanych wolontariuszy (17 kobiet, 23 mężczyzn, średni wiek 25 lat).

Wszystkie osoby z grupy 1-4 zostały uczulone haptentem DPCP wg protokołu opisanego poniżej.

Źródło promieniowania SSR

Promieniowanie SSR generowane było przez 100 W lampy Cleo Natural (Philips, Eindhoven, Holandia), emitujące spektrum: 4% UVB 280-315 nm; 96% UVA 315-400 nm. Natężenie promieniowania przy odległości obiektu 20 cm od świetlówek wynosiło 4,95 mW/cm², a jego pomiaru dokonywano urządzeniem Solar 3D UV (Solar Light co., Filadelfia, USA).

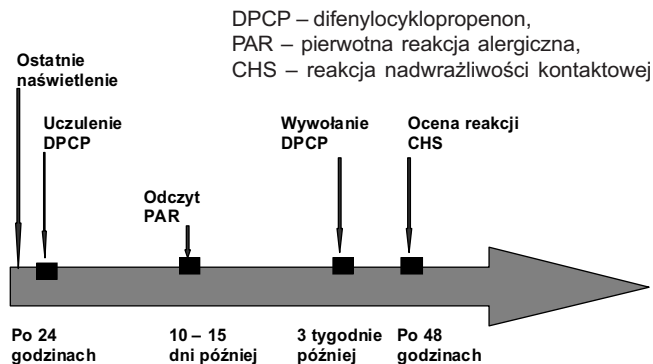
Fototesty

U wszystkich wolontariuszy oceniano indywidualną wrażliwość na promieniowanie UVB metodą ogólnie przyjętą, stosując lampę UV 109 (Waldmann Medizintechnik, Villingen-Schwenningen, Niemcy) emitującą promieniowanie UVB w zakresie 280-360 nm, przy maksimum emisji w paśmie 310 nm. Natężenie emitowanego promieniowania mierzono przy użyciu miernika promieni UV (Waldmann Medizintechnik W, UV 21) w spektrum 285-350nm [19].

Próby świetlne wykonywano w obrębie skóry wewnętrznej powierzchni przedramienia prawego. Naświetlań dokonywano w obrębie 6 pól o wymiarach 1 x 1 cm wzrastającymi dawkami UVB. Najmniejszą dawkę promieniowania ultrafioletowego, która po 24 godzinach powodowała jednolity, miernie nasilony rumień w całym naświetlanym polu określano jako minimalną dawkę rumieniotwórczą (MED).

Uczulenie i wywołanie reakcji nadwrażliwości kontaktowej (ryc. 1)

Uczulenie przeprowadzano przy zastosowaniu roztworu DPCP w acetonie (20µg DPCP/20µl acetonu) (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Szwajcaria), aplikowanego na 48 godzin na skórę pośladka w dwóch komorach typu Finn chambers (średnica jednej komory 8 mm) (Epitest Ltd, Tussula, Finlandia), przymocowanych hypoalergicznym plastrem. W grupach 1-3, DPCP nałożony został 24 godziny po ostatnim, trwającym 2, 10 lub 30 dni naświetleniu. Pomiędzy 10-15 dniem odczytywano pierwotną reakcję alergiczną (*primary allergic response*, PAR). Po trzech tygodniach od aplikacji, w celu wywołania reakcji CHS, u wszystkich wolontariuszy zakładano plastry z komorami (średnica 8 mm) wypełnionymi roztworem DPCP na wewnętrzną, nienaświetlaną część ramienia lewego



Ryc. 1. Schemat uczulenia i wywołania reakcji nadwrażliwości kontaktowej

w 4 zwiększających się stężeniach: 0,4 µg (20 µg DPCP w 1 ml acetonu), 0,8 µg (40 µg DPCP w 1 ml acetonu), 1,6 µg (80 µg DPCP w 1 ml acetonu), 3,2 µg (160 µg DPCP w 1 ml acetonu). W piątej komorze był aceton, stanowiący kontrolę. Plaster z DPCP pozostawał na skórze przez 6 godzin. Po 48 godzinach od aplikacji oceniano reakcję CHS [19, 20].

Nasilenie reakcji CHS, oceniano subiektywną skalą kliniczną, zalecaną w literaturze [19, 20]: (0) – brak reakcji, (1) – wyczuwalny rumień, (2) – rumień i naciek, (3) – rumień, naciek, grudki i/lub pęcherzyki, (4) – odczyn pęcherzowy.

Odczyt wartości rumienia i pigmentacji

U wszystkich wolontariuszy nasilenie rumienia i pigmentacji w miejscu wywołania reakcji CHS w każdym stężeniu DPCP oceniano stosując miernik UV Optimize 555, który wskazywał wartości nasilenia rumienia jako procent odbicia koloru czerwonego [23, 24]. W celu dokonania analizy porównawczej analogiczne pomiary przeprowadzano w obrębie otoczenia (skóra niezmienniona). Te same wartości w grupach naświetlanych mierzono również na pośladku (przed i po ostatnim naświetleniu). W każdym miejscu pomiar przeprowadzano trzykrotnie, a wynik stanowił średnią wartość.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono testami, odpowiednio: Manna-Whitneya, Wilcoxon, chi², korelacji Spearmana. Za wartości statystycznie istotne uznawano gdy p<0,05.

WYNIKI

Charakterystyka kliniczna wolontariuszy przedstawiona jest w tabeli I. Badaniem fizykalnym nie stwierdzono na skórze rumienia u żadnego z wolontariuszy, niezależnie od długości stosowanych naświetlań. Jedynie w grupie 3, po ostatnim naświetleniu obserwowano nieznaczną pigmentację skóry (opaleniznę).

Tabela I. Kliniczna charakterystyka wolontariuszy

Cecha	Grupa 4 (kontrolna) (n=40)	Grupa 1 (n=33)	Grupa 2 (n=34)	Grupa 3 (n=33)
Płeć K/M	17K/23M	17K/16M	13K/21M	16K/17M
Średni wiek	25	26.1	24.3	26.7
Fototyp	50% II; 50% III	55% II; 45% III	65% II; 35% III	67% II; 33% III
Średni UVB MED J/cm ²	0,18	0,16	0,16	0,15
Średni UVB MED J/cm ² a fototyp II/III	0,15/0,18	0,14/0,17	0,14/0,18	0,14/0,17

K – kobiety; M – mężczyźni; MED – minimalna dawka rumieniotwórcza

Kliniczna ocena reakcji nadwrażliwości kontaktowej

Reakcja PAR występowała pomiędzy 10-15 dniem po pierwszym kontakcie z haptenem. Obserwowano różnej jej nasilenie, począwszy od ostro odgraniczzonego od otoczenia rumienia do reakcji obrzękowej, z obecnością pęcherzyków i pęcherzy. Średnica odczynu PAR wynosiła od 11 do 25 mm. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy nasileniem reakcji PAR a CHS. W grupie kontrolnej PAR wystąpił u 34 wolontariuszy (85%) i czas jego utrzymywania wynosił od 5 do 14 dni. W grupach naświetlanych brak reakcji PAR stwierdzono u 7 wolontariuszy (21,2%) z grupy 1, u 8 (23,5%) z grupy 2 i u 12 (36%) z grupy 3. Czas utrzymywania się tej reakcji oceniano na: 3-14 dni w grupie 1, 3-12 dni w grupie 2 i 3-19 dni w grupie 3. Reakcja pęcherzowa wystąpiła u 5 osób z grupy kontrolnej, u 3 osób (9,1%) z grupy 1, u 1 (2,9%) – z grupy 2 i u żadnego ochotnika z grupy poddanej naświetlaniom przez 30 dni. Porównując dzień, w którym wystąpiła reakcja PAR i czas jej trwania, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi grupami a kontrolą ($p>0.05$).

W grupie kontrolnej stwierdzono wystąpienie reakcji CHS u 36 osób (78,5%) w najniższym stężeniu DPCP (0,4 µg), w tym u 1 ochotnika (2,5%) wystąpiły pęcherze,

natomiast w stężeniu największym (3,2 µg) reakcję CHS obserwowano u 90% osób i u 6 (15%) z nich wystąpił odczyn pęcherzowy. W grupach 1-3 brak reakcji w najniższym stężeniu DPCP stwierdzono odpowiednio u 8 (24,2%), 12 (35%) i 18 (54%) ochotników, natomiast w stężeniu najsilniejszym u: 5 (15,1%), 4 (11,8%) i u 9 (27,3%) naświetlanych osób.

Statystyczna analiza porównawcza uzyskanych wyników w grupach 1-3 w stosunku do grupy kontrolnej nie wykazała istotnych statystycznie różnic w wystąpieniu i nasileniu reakcji CHS ($p>0,05$). Korelując sumaryczną liczbę punktów nasilenia reakcji CHS, uzyskaną od wszystkich wolontariuszy poddawanych naświetleniom i od wolontariuszy grupy kontrolnej, z czasem naświetlania, nie uzyskano statystycznej zależności pomiędzy tymi parametrami ($p>0,05$).

Oceniając reakcję CHS jako cechę dychotomiczną (0 – brak reakcji, 1 – jakkolwiek reakcja) i zastosowaniu testu χ^2 ($df=3$), stwierdzono różnice pomiędzy liczbą osób, u których nie rozwinęła się reakcja CHS w porównaniu do pozostałych ($p=0,07$). Stosując test Spearmana wykazano istnienie korelacji pomiędzy liczbą osób z reakcją określoną jako 0 w miejscu najsłabszego stężenia DPCP a czasem trwania naświetlania (30 dniowa ekspozycja) ($R=-0,2$; $p=0,015$). Tendencję do takich samych różnic (dla 0,8 µg DPCP $p=0,28$; dla 1,6 µg DPCP $p=0,24$, dla 3,2 µg DPCP $p=0,5$) i zależności (dla 0,8 µg DPCP $R=-0,13$, $p=0,13$; dla 1,6 µg DPCP $R=-0,092$, $p=0,3$; dla 3,2 µg DPCP $R=-0,92$, $p=0,28$) obserwowano we wszystkich poszczególnych stężeniach, jednakże nie były one statystycznie istotne (tabela II, rycina 2).

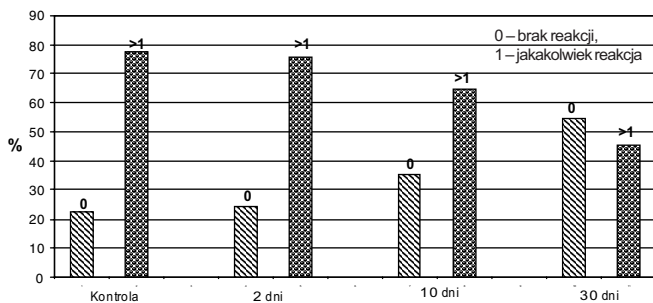
Pomiar rumienia w miejscu aplikacji DPCP i acetonu

Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy wartością pomiaru rumienia w miejscu założenia poszczególnych stężeń DPCP (0,4; 0,8; 1,6; 3,2 µg) a kontrolą (komora z acetonem) w grupie 1 i 2 ($p<0,05$). W grupie 3 różnice te były statystycznie istotne jedynie dla wyższych stężeń DPCP (0,8; 1,6; 3,2 µg). Średnia wartość rumienia u wszystkich wolontariuszy w miejscu przyłożenia 3,2 µg DPCP wynosiła 29,48%, podczas gdy w obrębie skóry

Tabela II. Częstość występowania reakcji nadwrażliwości kontaktowej w miejscach aplikacji poszczególnych stężeń difenylocykloproponu w badanych grupach

Stężenie DPCP	Częstość występowania reakcji nadwrażliwości kontaktowej							
	Grupa 1 (n=33)		Grupa 2 (n=34)		Grupa 3 (n=33)		Grupa 4 (n=40)	
	0	1	0	1	0	1	0	1
0,4 µg	24,2%	75,8%	35,3%	64,7%	54,5%	45,5%	22,5%	77,5%
0,8 µg	24,2%	75,8%	17,6%	82,4%	36,3%	63,7%	12,5%	87,5%
1,6 µg	24,2%	75,8%	11,8%	88,2%	30,3%	69,7%	10%	90%
3,2 µg	15,1%	84,9%	11,8%	88,2%	27,3%	72,7%	10%	90%

0 – brak reakcji, 1 – jakkolwiek reakcja; DPCP – difenylocyklopropon



Ryc. 2. Procentowa częstość występowania reakcji nadwrażliwości kontaktowej traktowanej jako cecha dychotomiczna w miejscu aplikacji najniższego stężenia difenylocyklopropenu

otoczenia 16,8% ($p < 0,0002$). Porównanie średnich wartości rumienia w poszczególnych grupach (1-4) nie wykazało różnic statystycznie istotnych ($p > 0,05$).

Pomiar pigmentacji w miejscu aplikacji DPCP i acetonu

Statystyczna analiza wartości pigmentacji wykazała różnice statystycznie istotne jedynie w miejscu aplikacji 3,2 μg DPCP w porównaniu do acetonu w obrębie grupy 2 i 3 ($p < 0,05$). Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi grupami.

Pomiar rumienia przed i po naświetlaniu (skóra pośladka)

Analizując wyniki pomiaru rumienia na skórze pośladka przed i po naświetlaniach, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w obrębie poszczególnych grup ($p = 0,34$ dla grupy 1, $p = 0,2$ dla grupy 2 i $p = 0,15$ dla grupy 3) ani pomiędzy grupami ($p > 0,05$).

Pomiar pigmentacji przed i po naświetlaniu (skóra pośladka)

Stwierdzono istotne statystycznie różnice w pomiarze wartości pigmentacji w obrębie poszczególnych grup ($p = 0,004$ dla grupy 1, $p = 0,003$ dla grupy 2 i $p = 0,001$ dla grupy 1), natomiast pomiędzy grupami istotnych różnic nie wykazano.

DYSKUSJA

Wiele danych literatury wskazuje, że ekspozycja na UV jest przyczyną zahamowania reakcji CHS, jednakże nadal nie jest znana dawka progowa promieniowania, wywołująca istotne zahamowanie odpowiedzi immunologicznej. Rozbieżne wyniki literatury wynikają ze stosowania różnych schematów naświetlań (źródło, czas ekspozycji, dawka, obszar naświetlany) oraz aplikacji różnych haptenu i ich odmiennych stężeń. Kelly i wsp. [19] wykazali, że pojedyncza ekspozycja na dawkę 3 MED SSR hamuje miejscową (100% osobników) i układową (83%

ludzi) reakcję CHS. Serre i wsp. [25] wykazali zahamowanie reakcji CHS u 50% ludzi pod wpływem dawki 3 MED SSR, z kolei Skov i wsp. [26] wykazali supresję tej reakcji pod wpływem takiej samej dawki promieniowania u 56% ochotników. Naświetlanie niewielkiej powierzchni skóry ludzi dawką 0,75 MED UVB przez 4 kolejne dni powodowało zahamowanie reakcji CHS u 68% wolontariuszy, natomiast zastosowanie przez 4 kolejne dni dawki 2 MED UVB hamowało tę reakcję już u 95% ludzi [27]. Kelly i wsp. [20] wykazali, że reakcja nadwrażliwości kontaktowej może ulec supresji po zastosowaniu pojedynczego naświetlania SSR w dawce 0,25-0,5 MED, jednakże efekt ten zależy od fototypu skóry. Fitzpatrick w 1988 roku [21] wyróżnił sześć fototypów (I-VI). Określa się je w oparciu o szczegółowo przeprowadzony wywiad, na podstawie którego ocenia się indywidualną reakcję na światło słoneczne w ciągu pierwszej w danym roku 30-minutowej ekspozycji w południe, w słoneczny dzień (Tabela III). W Polsce najczęściej występuje fototyp III, nieco rzadziej II. Osoby z fototypem I/II są 2-3-krotnie bardziej wrażliwi na zjawisko fotoimmunosupresji niż osobnicy z fototypem III/IV [20]. Wielu autorów podkreśla jednak, że efekt immunosupresji ściśle zależy od zastosowanego stężenia haptenu [28].

Tabela III. Fototypy skóry wg Fitzpatricka [21]

Fototyp skóry	Oparzenie słoneczne	Opalenizna
I	zawsze	nigdy*
II	zawsze	czasami
III	czasami	zawsze
IV	nigdy	zawsze
V	nigdy	zawsze**
VI	nigdy	zawsze***

* głównie populacja celtycka

** osoby z ciemną karnacją, mieszkańcy basenu Morza Śródziemnego

*** Afroamerykanie, mieszkańcy Afryki

W naszym badaniu ocenialiśmy wpływ niskich i podawanych przewlekle dawek SSR na odpowiedź CHS, ocenianą skalą kliniczną. Badanie było tak zaprojektowane, aby imitowało warunki życia codziennego – ekspozycję „weekendową” (2 dni), urlopową (10 dni) i wakacyjną (30 dni). Pojedyncza dawka SSR (1,2 SED) odpowiadała dawce, jaką otrzymujemy przebywając na powietrzu około 10 minut, w południe podczas bezchmurnego, słonecznego dnia w miejscowości położonej na południku 52° na półkuli północnej.

Uzyskane wyniki badań własnych wykazały, że niskie dawki promieniowania SSR, podawane przewlekle przez okres 30 dni mogą wywołać statystycznie istotne zahamowanie reakcji CHS, i efekt ten jest zależny od kumulacyjnej dawki UV. Kelly i wsp. [19] wykazali

bardziej spektakularnie fotoimmunosupresyjny efekt promieniowania SSR, jednakże w swoim eksperymencie używali oni wyższych dawek światła i w porównaniu z naszymi – wyższych stężeń haptenu. Dane te potwierdzają, że uzyskany końcowy efekt immunosupresji jest wypadkową tych dwóch czynników. Uważamy, że w zaplanowanym przez nas eksperymencie minimalna/progowa dawka immunosupresyjna jest mniejsza od kumulacyjnej, uzyskanej w ciągu 30 dni i większa od 10-dniowej.

Wartości pomiaru rumienia i pigmentacji pozwoliły na wykazanie różnic pomiędzy poszczególnymi naświetlanymi grupami, ale przede wszystkim wskazały na różnice osobnicze [29]. Poza badaniem klinicznym nasilenie reakcji CHS można określać bardziej obiektywnie, poprzez ocenę grubości naskórka i nasilenie spongiozy w badaniu histopatologicznym bądź np. metodą USG, mierząc grubość naskórka i skóry właściwej [19]. Ze względu jednak na trudności techniczne, większość autorów w swoich badaniach stosuje ocenę kliniczną i z zastosowaniem odpowiedniego miernika.

Nasze badanie przeprowadzane było na dużej grupie ochotników, a naświetlania jednej z grup trwały kilka ty-

godni, nie można więc wykluczyć wpływu na układ immunologiczny wolontariuszy innych czynników, jak np. stres czy inne czynniki środowiskowe. Niezależnie od tego jednakże, uzyskane wyniki wskazują, że przewlekłe, niskie, subrumieniotwórcze dawki promieniowania SSR hamują reakcję CHS a efekt ten jest zależny od dawki kumulacyjnej. Wyniki te wskazują również na wysoką przydatność klinicznej oceny reakcji CHS w określaniu stopnia zahamowania odpowiedzi immunologicznej przez promieniowanie ultrafioletowe.

Ze względu na uznany niekorzystny wpływ promieni UV na rozwój nowotworów skóry, uzyskane wyniki potwierdzają konieczność stosowania środków ochronnych przed promieniowaniem ultrafioletowym w profilaktyce procesu kancerogenezy.

Podziękowania:

Praca jest finansowana z funduszu Projektu Naukowego Unii Europejskiej nr QTL-CT-2001-00212 IHA-UV, kierowanego przez prof. Henka van Loveren, RIVM, Bilthoven, Holandia. Dziękujemy pani mgr Grażynie Jastrzębskiej, Stanisławie Madalińskiej, Małgorzacie Tarkowskiej oraz Beacie Rylskiej za techniczną pomoc w realizacji badania.

Piśmiennictwo

- Luger TA, Schwarz T. Effects of UV-light on cytokines and neuroendocrine hormones. w: Photoimmunology, wyd. J Krutmann, C Elms, Oxford Blackwell Science. 1995: 55-76.
- Beissert S, Schwarz T. Mechanisms involved in ultraviolet light-induced immunosuppression. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4: 61-64.
- Kripke ML. Effects of UV radiation on tumor immunity. *J Nat Cancer Inst* 1990; 82: 1392-1396.
- Boonstra A, Savelkoul HF. The role of cytokines in ultraviolet-B induced immunosuppression. *Eur Cytokine Network* 1997; 8: 117-123.
- Garssen J, Vandebriel RJ, van Loveren H. Molecular aspects of UVB-induced immunosuppression. *Arch Toxicol* 1997; 19: 97-109.
- Luger TA, Scholzen T, Grabbe S. The role of alpha-melanocyte-stimulating hormone in cutaneous biology. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1997; 2: 87-93.
- Norris DA, Whang K, David-Bajar K I wsp. The influence of ultraviolet light on immunological cytotoxicity in the skin. *Photochem Photobiol* 1997; 65: 636-646.
- Scholzen TE, Broska T, Kalden DH i wsp. Effect of ultraviolet light on the release of neuropeptides and neuroendocrine hormones in the skin: mediators of photodermatitis and cutaneous inflammation. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4: 55-60.
- Reeve VE. Ultraviolet radiation and the contact hypersensitivity in mice. *Methods* 2002; 28: 20-24.
- Jakob T, Ring J, Udey MC. Multistep navigation of Langerhans/dendritic cells in and out of the skin. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 688-696.
- Toews GB, Bergstresser PR, Streilein JW. Epidermal Langerhans cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin paiting with DNFB. *J Immunol* 1980; 124: 445-453.
- Aberer W, Schuler G, Stingl G i wsp. Ultraviolet light depletes surface markers of Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 202-210.
- Young JW, Baggers J, Soergel SA. High-dose UVB radiation alters human dendritic cell costimulatory activity but does not allow dendritic cells to tolerize T lymphocytes to alloantigen in vitro. *Blood* 1993; 81: 2987-2997.
- Weiss JM, Renkl AC, Denfeld RW i wsp. Low-dose UVB radiation perturbs the functional expression of B7.1 and B7.2 costimulatory molecules on human Langerhans cells. *Eur J Immunol* 1995; 25: 2858-2862.
- Laihia JK, Jansen CT. Up-regulation of human epidermal Langerhans' cell B7-1 and B7-2 co-stimulatory molecules in vivo by solar-simulating irradiation. *Eur J Immunol* 1997; 27: 984-989.
- Walterscheid JP, Nghiem DX, Ullrich SE. Determining the role of cytokines in UV-induced immunomodulation. *Methods* 2002; 28: 71-78.
- Petit-Frère C, Clingen PH, Grewe M i wsp. Induction of interleukin 6 production by ultraviolet radiation in normal human epidermal keratinocytes and in a human keratinocyte cell line is mediated by DNA damage. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 354-359.
- Seite S, Zuccchi H, Moyal D i wsp. Alteration in human epidermal Langerhans cells by ultraviolet radiation: quantitative and morphological study. *Br J Dermatol* 2003; 148: 2991-2999.
- Kelly DA, Walker SL, McGregor JM i wsp. A single exposure of solar simulated radiation suppress contact hypersensitivity responses both locally and systemically in humans: quantitative studies with high frequency ultrasound. *J Photochem Photobiol* 1998; 44: 130-142.
- Kelly DA, Young AR, McGregor JM i wsp. Sensitivity to sunburn is associated with susceptibility to ultraviolet radiation-induced suppression of cutaneous cell-mediated immunity. *J Exp Med* 2000; 191: 561-66.

21. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; 124: 869-71.
22. Diffey BL. Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods* 2002, 28: 4-13.
23. Wulf HC. A method and an apparatus for determining an individual's ability to stand exposure to ultraviolet radiation. Patent PCT/DK 1993; WO 93/16635: 1-44
24. Hansen AB, Bech-Thomsen N, Wulf HC. Erythema after irradiation with ultraviolet B from Philips TL12 and TL01 tubes. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1994;10: 22-25.
25. Serre I, Cano JP, Picot MC i wsp. Immunosuppression induced by acute solar-simulated ultraviolet exposure in humans: prevention by a sunscreen with a sun protection factor of 15 and high UVA protection. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: 187-194.
26. Skov L, Hansen H, Barker JNWN i wsp. Contrasting effects of ultraviolet-A and ultraviolet-B exposure on induction of contact hypersensitivity in human skin. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 585-588.
27. Cooper KD, Oberhelman L, Hamilton TA i wsp. UV exposure reduces immunization rates and promotes tolerance to epicutaneous antigens in humans: relationship to dose, CD1a-DR+ epidermal macrophage induction and Langerhans cells depletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 8497-8501.
28. Norval M. Effects of solar radiation on the human immune system. *J Photochem Photobiol* 2001; 63: 28-40.
29. Lock-Andersen J, Knudstorp ND, Wulf HC. Facultative skin pigmentation in caucasians: an objective biological indicator of lifetime exposure to ultraviolet radiation? *Br J Dermatol* 1998; 138: 826-832.