

Ekspresja białek powierzchniowych na monocytach krwi obwodowej u osób z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej leczonych prednizonem

Expression of surface proteins on peripheral blood monocytes in patients with asthma exacerbation treated with prednisone

KRZYSZTOF KOWAL^{1/}, IRENA ZŁOTNIK^{1/}, JOANNA OSADA^{2/},
MILENA DĄBROWSKA^{2/}, ANNA BODZENTA-ŁUKASZYK^{1/}

^{1/} Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Białymstoku, ul. Skłodowskiej-Curie 24a, 15-276 Białystok

^{2/} Zakład Diagnostyki Hematologicznej Akademii Medycznej w Białymstoku

Celem pracy była ocena zmian ekspresji wybranych antygenów powierzchniowych na monocytach krwi obwodowej u osób z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej leczonych prednizonem w dawce 40 mg/dobę. Przebadano osiem osób ze średnio ciężką dychawicą oskrzelową (średnia wartość $FEV_1 = 63,3\% \pm 12\%$). Jako negatywną kontrolę użyto krew pochodzącą od pięciu zdrowych osób. Wszyscy chorzy z dychawicą oskrzelową mieli dodatnie testy skórne z antygenami *Dermatophagoides pteronyssinus*. W czasie zaostrzeń dychawicy oskrzelowej stosowano krótkotrwałe leczenie doustnymi kortykosteroidami. Próbkę krwi pobierano przed wprowadzeniem doustnych kortykosteroidów, oraz 24 godziny i 5 dni po rozpoczęciu leczenia. Badania przy użyciu cytometru przepływowego przeprowadzono na krwi pełnej stosując znakowane przeciwciała przeciw CD14, CD16 i CD36. W porównaniu z grupą kontrolną, u osób z dychawicą oskrzelową podczas zaostrzenia stwierdzono wyższy odsetek komórek posiadających na swojej powierzchni antygeny CD14, CD16 oraz CD14 i CD16 (odpowiednio $65,1 \pm 16,4\%$ vs. $90,5 \pm 2,9\%$; $29,7 \pm 14\%$ vs. $54,3 \pm 11,9\%$; $5,4 \pm 7\%$ vs. $45 \pm 12,1\%$). Po pięciu dniach leczenia zaobserwowano istotną poprawę kliniczną, która korelowała z wynikami spirometrycznymi (średnia $FEV_1 = 76 \pm 8,3\%$). W tym czasie obniżył się odsetek komórek CD14+ ($80,4 \pm 4,5\%$) oraz komórek CD36+ ($58,8 \pm 14,3\%$), aczkolwiek wartość odsetkowa komórek CD14+ była w dalszym ciągu wyższa niż w grupie kontrolnej. Odsetek komórek CD14+/CD16+ po pięciodniowej terapii pozostał wysoki ($54,8 \pm 11,2\%$).

W przebiegu zaostrzenia dychawicy oskrzelowej leczonej prednizonem zachodzą istotne przesunięcia subpopulacji monocytów krwi obwodowej.

Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 39-43

Słowa kluczowe: monocyty, dychawica oskrzelowa, kortykosteroidy

The aim of this study was to evaluate expression of selected surface antigens on peripheral blood monocytes in bronchial asthma patients during exacerbation treated with oral prednisone 40 mg/day. Eight patients with moderate asthma (mean $FEV_1 = 63.3\% \pm 12\%$) were studied. Five healthy persons were negative controls. All asthma patients had positive skin prick tests to *Dermatophagoides pteronyssinus*. During exacerbation, short course of oral corticosteroids was introduced. Blood samples were collected before corticosteroid therapy, 24 hours and 5 days after the therapy was started. Flow cytometry analysis using labeled monoclonal antibodies to CD14, CD16, CD36, was performed on the whole blood. In comparison with healthy controls, in asthma patients, during exacerbation, higher percentages of cells expressing CD14+, CD16+, and CD14+/CD16+ in peripheral blood monocyte population were detected ($65.1 \pm 16.4\%$ vs. $90.5 \pm 2.9\%$; $29.7 \pm 14\%$ vs. $54.3 \pm 11.9\%$; $5.4 \pm 7\%$ vs. $45 \pm 12.1\%$, respectively). After five days of the therapy, significant clinical improvement was noted and it correlated with lung function test results (mean $FEV_1 = 76\% \pm 8.3\%$). At that time, significant decrease in the percentage of CD14+ ($80.4 \pm 4.5\%$) and CD36+ ($58.8 \pm 14.3\%$) was found, but the percentage of CD14+ cells was still higher than in healthy controls. The percentage of CD14+/CD16+ cells after 5 days of therapy remained high ($54.8 \pm 11.2\%$).

Significant changes in peripheral blood monocyte subpopulations occur in patients with asthma exacerbation treated with short course of oral prednisone.

Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 39-43

Key words: monocytes, bronchial asthma, corticosteroids

Dychawicę oskrzelową charakteryzuje stan zapalny błony śluzowej oskrzeli. Proces ten leży u podstaw późnej fazy reakcji alergicznej, jak i nadreaktywności oskrzeli. Centralną rolę w utrzymaniu takiego stanu wydaje się pełnić aktywowany limfocyt T, który również w sposób

selektywny stymuluje napływ komórek efektorowych: eozynofików i bazofików [1].

Monocyty i makrofagi stanowią ważne ogniwo w inicjacji i regulacji procesu zapalnego. Komórki te są zdolne do wychwytu, przetworzenia i prezentacji antygeny oraz

są w stanie kontrolować wzrost i różnicowanie się limfocytów [2]. Monocyty krwi obwodowej są prekursorami makrofagów tkankowych, gdyż zarówno w tkankach zdrowych, jak i zmienionych zapalnie makrofagi są w stanie proliferować jedynie w niewielkim odsetku, a proces zapalny istotnie zwiększa napływ tych komórek do tkanek [3].

Monocyty krwi obwodowej stanowią heterogenną grupę, a poszczególne subpopulacje różnią się między sobą morfologicznie, jak i czynnościowo. Wykazano znamienne różnice w uwalnianiu interleukiny-1 beta (IL-1 β) po stymulacji kwasem polirybocytydylowym w zależności od gęstości względnej monocytów [4]. Zembala i wsp. obserwowali słabszą zdolność do prezentowania antygenów oraz zależne od dawki supresyjne działanie na indukowaną antygenem czy mitogenem odpowiedź proliferacyjną limfocytów T, monocytów, posiadających na swojej powierzchni cząsteczki Fc γ RI [5]. Niewielki odsetek monocytów u osób zdrowych stanowi niedawno opisana subpopulacja „CD14+/CD16+” cechująca się niską ekspresją CD14 oraz obecnością na swojej powierzchni receptora CD16 tj. receptora dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (Fc γ RIII) [6]. Komórki te stymulowane lipopolisacharydem (LPS) uwalniają znaczne ilości prozapalnych cytokin takich, jak IL-1 β , TNF- α , IL-6 podczas, gdy nie produkują przeciwzapalnej IL-10 [7].

Z drugiej strony bardzo istotne znaczenie na sposób odpowiedzi monocytów ma rodzaj reagującej z nimi substancji. Związanie receptora CD14 przez LPS, czy połączenie się kompleksu antygen-przeciwciała z odpowiednim receptorem powoduje uwolnienie znacznej ilości cytokin prozapalnych takich, jak IL-1 β , IL-6 czy TNF- α [8]. Z kolei stymulacja tych komórek poprzez receptor CD36 oksydacyjnie zmienionymi lipoproteinami (oxLDL), czy związanie tego receptora przez apoptotycznie zmienione komórki, silnie hamuje uwalnianie cytokin prozapalnych w odpowiedzi na LPS [9].

Steroidy przyjmowane doustnie jako krótkotrwałe, okresowe leczenie stanowią istotny element terapeutyczny w leczeniu zaostrzeń dychawicy oskrzelowej [10].

Postanowiliśmy zbadać ekspresję wybranych receptorów na monocytach krwi obwodowej u osób z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej leczonych doustnie prednizonem w dawce 40 mg/dobę.

PACJENCI I METODY

Pacjenci

Badania przeprowadzono u 8 osób (4 kobiety, 4 mężczyzn) w wieku 18 - 48 lat (średnia 29 lat) chorych na dychawicę oskrzelową oraz u 5 osób zdrowych w wieku 21-36 lat (średnia 27 lat). Chorych klasyfikowano do badań na podstawie charakterystycznego wywiadu, dodatnich testów skórnych z antygenami roztoczy kurzu domowego oraz badania spirometrycznego. Wszyscy chorzy mieli lekkiego lub średniego stopnia obturację drzewa

oskrzelowego: średnia wartość natężonej objętości pierwszosekundowej (FEV₁) wynosiła 63,3% \pm 12%. Zastosowanie 200 μ g salbutamolu podanego drogą wziewną powodowało istotną poprawę FEV₁: o co najmniej 15 % i co najmniej 200ml, zgodnie z wytycznymi diagnostycznymi dychawicy oskrzelowej *American Thoracic Society* [11]. Chorzy regularnie przyjmowali długo działający beta₂ mimetyk (formoterol 2x9 μ g) oraz wziewny steroid (budesonid 2x400 μ g). Podczas zaostrzenia choroby stosowano dodatkowo okresową, kilkudniową, terapię prednizonem, doustnie, 40mg/dobę oraz wziewny krótkodziałający lek bronchodilacyjny - salbutamol w nebulizacji, którzy chorzy otrzymywali jedynie w pierwszych dwóch dniach leczenia.

Badania cytometryczne

Krew żylną pobierano do próbek z wersenianem dwupotasowym (K₂EDTA) w proporcji 1,5 mg wersenianu na 1 ml krwi. Bezwzględna liczbę monocytów oceniano za pomocą analizatora hematologicznego Technicon H3. Do analizy cytometrycznej używano krwi pozostałej po rutynowym oznaczaniu morfologii krwi i leukogramu pobieranej przed podaniem steroidów, 24 godziny oraz 5 dni po rozpoczęciu leczenia.

Próbki krwi pełnej (100 μ l) inkubowano z przeciwciałami monoklonalnymi anty CD14-PE (Sigma), antyCD16-FITC (Becton Dickinson), antyCD36-FITC (Serotec), w ilości 5 μ l/próbkę przez 15 min w temp pokojowej, a następnie przed oznaczeniem dokonywano lizy erytrocytów za pomocą preparatu *ImmunoPrep Lysing Solution* (Coulter). Jako kontrolę negatywną stosowano odpowiednie przeciwciała idiotypowe znakowane fluoresceiną lub fykocerytryną (Becton Dickinson). Oznaczenia przeprowadzono przy użyciu cytometru przepływowego Coulter Epics XL.

Analiza statystyczna

Obliczenia wykonywano przy użyciu programu statystycznego Medcalc w oparciu o test ANOVA. Wartości przedstawiono jako wartość średnia \pm odchylenie standardowe ($\bar{x}\pm$ SD).

WYNIKI

U osób z dychawicą oskrzelową przyjmujących regularnie wziewne leki bronchodilacyjne oraz wziewne steroidy, w momencie zaostrzenia stwierdzono istotnie mniejszą liczbę monocytów w 1 μ l krwi obwodowej niż u osób zdrowych (290 \pm 120 vs. 440 \pm 95; p=0,042). Podobnie liczba monocytów wykazujących na swojej powierzchni receptor CD36 (CD36+) była istotnie niższa u osób z dychawicą oskrzelową niż u osób zdrowych (237 \pm 34 / μ l vs. 318 \pm 30 / μ l; p = 0,02) (tab. I) Nie stwierdzono różnic ilościowych monocytów posiadających na swojej powierzchni receptor CD14 (CD14+) oraz monocytów wykazujących ekspresję CD16 (CD16+) pomiędzy grupą osób

Tabela I. Zmiany odsetkowe poszczególnych subpopulacji monocytów we krwi obwodowej u osób z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej leczonych prednizonem i w grupie kontrolnej

Komórki	Grupa kontrolna		Dychawica oskrzelowa					
			przed leczeniem		24 godziny		5 dni	
	liczba / μ l	%	liczba / μ l	%	liczba / μ l	%	liczba / μ l	%
CD14+	286 \pm 70	65,1 \pm 16,4	262 \pm 9	90,5 \pm 2,9 ^b	430 \pm 9 ^d	95,5 \pm 2,1 ^d	209 \pm 12 ^c	80,4 \pm 4,5 ^c
CD16+	131 \pm 62	29,7 \pm 14,1	158 \pm 41	54,3 \pm 11,9 ^b	302 \pm 42 ^d	67,1 \pm 9,3 ^d	184 \pm 26	70,9 \pm 10,1 ^d
CD36+	318 \pm 30	72 \pm 7	237 \pm 34 ^a	82 \pm 11,6	347 \pm 56	77,2 \pm 12,5	153 \pm 37 ^c	58,8 \pm 14,3 ^c
CD14+/CD16+	34 \pm 38	5,4 \pm 7	131 \pm 36 ^b	45 \pm 12,1 ^b	279 \pm 44 ^d	62,1 \pm 9,7 ^d	142 \pm 29	54,8 \pm 11,2

^a – mniejsze niż w grupie kontrolnej; $p < 0,05$; ^b – większe niż w grupie kontrolnej; $p < 0,05$; ^c – mniejsze niż przed leczeniem; $p < 0,05$; ^d – większe niż przed leczeniem; $p < 0,05$

z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej a grupą kontrolną (odpowiednio: 262 \pm 9 / μ l vs. 286 \pm 70 / μ l; $p = 0,12$ oraz 158 \pm 48 / μ l vs 131 \pm 62 / μ l; $p = 0,16$), natomiast liczba komórek wykazujących na swojej powierzchni zarówno receptor CD14 jak i CD16 (CD14+/CD16+) była istotnie wyższa u osób z dychawicą oskrzelową (131 \pm 36 / μ l vs. 34 \pm 38 / μ l; $p < 0,0001$).

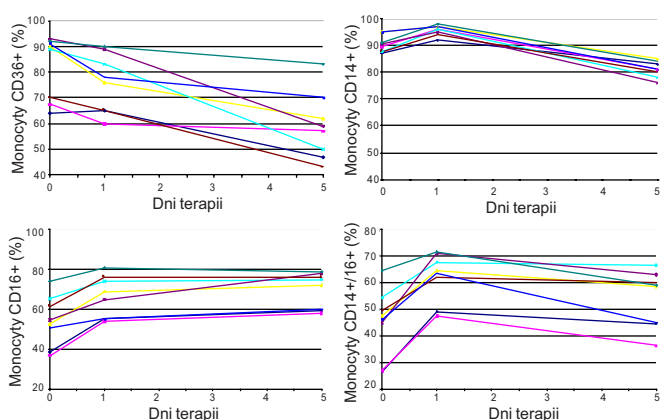
Pomimo zmniejszonej bezwzględnej liczby monocytów we krwi obwodowej analiza poszczególnych subpopulacji wykazała, iż komórki CD14+/CD16+, CD16+ oraz CD14+ stanowiły wyższy odsetek całkowitej liczby monocytów krwi obwodowej u osób z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej (odpowiednio: 45 \pm 12,1% vs. 5,4 \pm 7%; $p < 0,001$, 54,3% \pm 11,9% vs. 29,7 \pm 14,1% $p < 0,001$ oraz 90,5 \pm 2,9% vs. 65,1% \pm 16,4%; $p < 0,001$). W tej grupie osób obserwowano również wyższy odsetek monocytów CD36 (82 \pm 11,6 % vs. 72 \pm 7 %; $p = 0,08$), aczkolwiek różnica nie była znamienna statystycznie (tab. I).

Po 24 godzinach leczenia liczba monocytów istotnie wzrosła u wszystkich chorych osiągając wartość niemal dwukrotnie wyższą: średnio 450 \pm 140 / μ l ($p < 0,001$). Zaobserwowano w tym czasie istotny wzrost zarówno bezwzględnej liczby, jak i odsetka wszystkich, za wyjątkiem CD36+ badanych subpopulacji (tab. I).

Po pięciu dniach terapii liczba bezwzględna monocytów w 1 μ l krwi nie różniła się od wartości sprzed rozpoczęcia terapii (260 \pm 150 / μ l), natomiast zarówno liczba bezwzględna, jak i wartości odsetkowe komórek wykazujących ekspresję CD14 i CD36 uległy istotnemu obniżeniu (tab. I). Utrzymał się wzrost wartości odsetkowej monocytów CD16+, natomiast obniżyła się ich bezwzględna liczba w porównaniu z wartościami stwierdzanymi w 24 godziny po rozpoczęciu leczenia, osiągając wartości nie różniące się istotnie od wartości sprzed rozpoczęcia terapii. Bezwzględna liczba komórek CD14+/CD16+, jak również ich odsetek po 5 dniach terapii nie różniły się w porównaniu z wartościami wyjściowymi, natomiast były niższe niż 24 godziny po rozpoczęciu terapii (tab. I).

Analiza przebiegu zmian odsetkowych poszczególnych subpopulacji monocytów w trakcie terapii u poszczególnych chorych wykazała, że przebiegały one u wszystkich badanych osób w sposób jednakowy. Obserwowano

wzrost odsetka komórek CD14+, CD16+, CD14+/CD16+ w 24 godziny po rozpoczęciu terapii oraz obniżanie się odsetka CD14+ i CD14+/CD16+ w kolejnych dniach. Odsetek komórek CD16+ wzrastał w ciągu pięciodniowej terapii, a odsetek CD36+ ulegał systematycznemu obniżaniu (ryc. 1,2,3,4).



Ryc. 1, 2, 3, 4. Zmiany odsetka subpopulacji monocytów we krwi obwodowej u poszczególnych chorych z zaostrzeniem dychawicy oskrzelowej podczas leczenia prednizonem w dawce 40 mg/dobę

DYSKUSJA

Monocyty krwi obwodowej stanowią heterogenną grupę zarówno czynnościowo, jak i morfologicznie [4,5,6]. Różnice w częstości występowania poszczególnych subpopulacji monocytów oraz ekspresji receptorów powierzchniowych na tych komórkach obserwowano w wielu chorobach o podłożu immunologicznym, w tym w dychawicy oskrzelowej [12,13,14,15]. W powyższym badaniu we krwi obwodowej osób z dychawicą oskrzelową stwierdziliśmy wyższy odsetek monocytów posiadających na swojej powierzchni receptor dla LPS (CD14), monocytów posiadających receptor dla fragmentu Fc immunoglobuliny G - Fc γ RIII (CD16) oraz komórek posiadających na swojej powierzchni obydwie te receptory (CD14+/CD16+). Zwiększoną liczbę tych ostatnich komórek obserwowano we krwi osób z gruźlicą, sepsą, infekcją HIV, kłębkowym zapaleniu nerek i chorobami

o podłożu autoimmunologicznym [13,14,15,16]. U osób ze stwardnieniem rozsianym ich liczba koreluje z zaostreniem procesu chorobowego, natomiast zastosowanie dożylnych iniekcji metylprednizolonu w dawce 500mg dziennie powodowało szybkie obniżenie liczby komórek CD14+/CD16+ we krwi obwodowej, które to zjawisko utrzymywało się przez okres kuracji i korelowało z poprawą kliniczną [16]. Podobne zjawisko opisywano w innych chorobach rozwijających się na podłożu przewlekłego procesu zapalnego [16]. Komórki CD14+/CD16+ charakteryzują się większą zdolnością fagocytozy, produkują większe ilości IL-1 β oraz posiadają na swojej powierzchni więcej antygenów grupy HLA, niż monocyty CD14+ [17]. Poza tym nie produkują one przeciwwzapalnie działającej IL-10 [7].

Glukokortykosteroidy są silnymi lekami przeciwzapalnymi wywierającymi wpływ hamujący na wiele etapów procesu zapalnego. Zmniejszają one uwalnianie prozapalnych mediatorów takich, jak TNF- α , IL-1 β , IL-6, ekspresję cząsteczek powierzchniowych niezbędnych w procesie zapalnym oraz hamują migrację leukocytów do miejsc zmienionych zapalnie [18,19,20,21]. Z drugiej strony steroidy indukują produkcję przeciwwzapalnie działającej IL-10 [22]. Obserwowany w naszych badaniach, u osób z zaostreniem dychawicy oskrzelowej, wzrost liczby komórek CD14+/CD16+, jak również wszystkich komórek szeregu monocytarnego po pierwszych 24 godzinach terapii może być sumą działania steroidów doustnych oraz ogólnoustrojowego działania leków beta2-adrenergicznych przyjmowanych podczas pierwszej doby w znacznie wyższych dawkach. Wzrost liczby komórek CD14+/CD16+ obserwuje się po wysiłku fizycznym, a przyjęcie propranololu zapobiega wystąpieniu tego zjawiska [23]. Kliniczny efekt terapii, udokumentowany poprawą wartości przepływów oraz zmniejszeniem zapotrzebowania na krótko działające leki bronchodilatoryjne, był w badanej grupie chorych widoczny po 5 dniach leczenia. W tym czasie zaobserwowano istotne obniżenie liczby komórek CD14+ oraz CD36+, liczba tych ostatnich jak również ich wartość odsetkowa były istotnie niższe zarówno w porówna-

niu z wartościami u poszczególnych chorych sprzed leczenia, jak również były one niższe niż w grupie kontrolnej. Prednizolon *in vivo* jak i *in vitro* zmniejsza ilość receptorów CD14 na monocytach oraz częściowo hamuje wzrost ekspresji tego receptora po stymulacji LPS [24]. W badaniach przeprowadzonych *in vitro* deksametazon hamował produkcję zarówno mRNA, jak i białka CD36 na monocytach [25]. Na uwagę zasługuje fakt, iż ze wszystkich badanych przez nas białek jedynie wartości odsetkowe CD36 uległy obniżeniu w 24 godziny i dalszej redukcji 5 dni po rozpoczęciu sterydoterapii.

Obserwowany efekt kortykosteroidów na ekspresję receptorów CD14 i CD36 przemawia za oddziaływaniem sterydoterapii na monocyty krwi obwodowej u osób z dychawicą oskrzelową. Aczkolwiek liczba komórek CD14+/CD16+ w porównaniu z wartościami stwierdzanymi po 24 godzinach terapii uległa obniżeniu, ani ich liczba ani wartość odsetkowa po 5 dniach nie różniła się od wartości wyjściowych. Utrzymywanie się podwyższonej liczby komórek CD14+/CD16+ we krwi obwodowej u osób z dychawicą oskrzelową, pomimo klinicznie skutecznej terapii, może wskazywać na pewne odrębności procesu zapalnego w tej chorobie w porównaniu z innymi chorobami o podłożu zapalnym. Podobnie stosowane dawki steroidów w leczeniu dychawicy oskrzelowej były istotnie mniejsze w porównaniu z dawkami stosowanymi w leczeniu zaostreń chorób autoimmunologicznych. W końcu, obserwowane zjawisko może przemawiać za utrzymywaniem się procesu zapalnego w dychawicy oskrzelowej, pomimo ustępowania objawów klinicznych oraz poprawy parametrów oddechowych. Aczkolwiek nie można jednoznacznie wnioskować z przedstawionych danych co do wpływu steroidów na ekspresję badanych białek, to jednak zgodne obserwacje *in vivo* i *in vitro* wydają się wskazywać na wpływ powyższych leków na stwierdzane zmiany. Dalsze badania są konieczne w celu oceny przydatności badania subpopulacji monocytów krwi obwodowej jako potencjalnego parametru oceniającego proces zapalny w dychawicy oskrzelowej.

Piśmiennictwo

1. Nadel JA. Inflammation in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 651-653.
2. Unanue ER.: The regulatory role of macrophages in antigenic stimulation. II Symbiotic relationship between lymphocytes and macrophages. *Adv Immunol* 1981; 31: 1.
3. Blusse van Oud A, van der Linden-Schreier B, van Furth R. Origin and kinetics of pulmonary macrophages during inflammatory reaction induced by intra-alveolar administration of aerosolised heat-killed BCG. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 276-281.
4. Akiyama Y, Stevenson GW, Schlick E i wsp. Differential ability of human blood monocyte subsets to release various cytokines. *J Leuk Biol* 1985; 37: 519-530.
5. Zembala M; Uracz W; Ruggiero I; Mytar B; Pryjma J. Isolation and functional characteristics of FcR+ and FcR-human monocyte subsets. *J Immunol* 1984; 133: 1293-1299.
6. Loms-Ziegler-Heitbrock HW, Fingerle G, Strobel M i wsp. The novel subset of CD14/CD16 blood monocytes exhibits features of tissue macrophages. *Eur J Immunol* 1993; 23: 2053-2058.
7. Frankenberger M, Sternsdorf T, Pechumer H, Pforte A, and HW Loms Ziegler-Heitbrock. Differential cytokine expression in human blood monocyte subpopulations: A polymerase chain reaction analysis. *Blood* 1996; 87: 373-377.
8. Waal MR, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries J. Interleukin 10 (IL-10) Inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 174: 1209-1220.
9. Ohlsson BG, Englund MCO, Karlsson AK i wsp. Oxidized low density lipoprotein inhibits lipopolysaccharide-induced binding of nuclear factor- κ B to DNA and subsequent expression of tumor necrosis factor α and interleukin 1b in macrophages. *J Clin Invest* 1996; 98: 78-89.

10. Loren ML, Chai H, Leung P. Corticosteroids in the treatment of acute exacerbations of asthma. *Ann Allergy* 1980; 45: 67.
11. American Thoracic Society. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1202-1218.
12. Rivier A, Pene J, Rabesandratana H i wsp. Blood monocytes of untreated asthmatics exhibit some features of tissue macrophages. *Clin Exp Immunol* 1995; 100: 314-318.
13. Vanham G, Edmonds K, Quing L i wsp. Generalized immune activation in pulmonary tuberculosis: co-activation with HIV infection. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 30-34.
14. Fingerle G, Pforte A, Passlick B i wsp. The novel subset of CD14+/CD16+ blood monocytes is expanded in sepsis patients. *Blood* 1993; 82: 3170-3176.
15. Locher C, Vanham G, Kestens L i wsp. Expression patterns of Fcγ receptors, HLA-DR and selected adhesion molecules on monocytes from normal and HIV - infected individuals. *Clin Exp Immunol* 1994; 98: 115-122.
16. Fingerle-Rowson G, Angstwurm M, Andreesen R, Ziegler-Heitbrock HWL. Selective depletion of CD14+CD16+ monocytes by glucocorticoid therapy. *Clin Exp Immunol* 1998; 112: 501-506.
17. Scherberich JE, Nockher WA. CD14++ monocytes, CD14+/CD16+ subset and soluble CD14 as biological markers of inflammatory systemic diseases and monitoring immunosuppressive therapy. *Clin Chem Lab Med.* 1999, 37: 209-213.
18. Luedke CE, Cerami A. Interferon-γ overcomes glucocorticoid suppression of cachectin/tumor necrosis factor biosynthesis by murine macrophages. *J Clin Invest* 1990; 86: 1234-1240.
19. Lee SW, Tsou AP, Chan H i wsp. Glucocorticoids selectively inhibit the transcription of the interleukin 1β gene and decrease the stability of interleukin 1β mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 1204-1208.
20. Waage A, Slupphaug G, Shalaby R. Glucocorticoids inhibit the production of IL-6 from monocytes, endothelial cells and fibroblasts. *Eur J Immunol* 1990; 20: 2439-2443.
21. Cronstein BN, Kimmel S.C., Levin RI i wsp. A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9991-9995.
22. Tabardel Y, Duchateau J, Schmartz D i wsp. Corticosteroids increase blood interleukin - 10 levels during cardiopulmonary bypass in men. *Surgery* 1996; 119: 76-80.
23. Steppich B, Dayyani F, Gruber R i wsp. Selective mobilization of CD14(+)CD16(+) monocytes by exercise. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C578-C586.
24. Nockher WA, Scherberich JE. Expression and release of the monocyte lipopolysaccharide receptor antigen CD14 are suppressed by glucocorticoids *in vivo* and *in vitro*. *J Immunol* 1997; 158: 1345-1352.
25. Yesner LM, Huh HY, Pearce SF, Silverstein RL. Regulation of monocyte CD36 and thrombospondin-1 expression by soluble mediators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1019-1025.