

Ekspresja CD23 na limfocytach B krwi obwodowej i stężenie cytokin IL-4, IL-10, IL-12 u dzieci z zespołem atopowego zapalenia skóry

Expression of CD23 on B cells and serum levels of IL-4, IL-10, IL-12 in children with atopic eczema / dermatitis syndrome

EDYTA MACHURA ^{1/}, BOGDAN MAZUR ^{2/}, EWA GRZYWNA ^{1/}, KRYSZYNA KARCEWSKA ^{1/}, EWA GOLEMIEC ^{1/}

^{1/} Klinika Gastroenterologii Alergologii i Zaburzeń Rozwoju Wiek Dziecięcego Śląskiej Akademii Medycznej, ul. 3 Maja 13/15, 41-800 Zabrze

^{2/} Klinika Endokrynologii i Patofizjologii Śląskiej Akademii Medycznej, ul. 3 Maja 13/15, 41-800 Zabrze

Wprowadzenie. Zespół atopowego zapalenia skóry (ZAZS) jest przewlekłą dermatozą zapalną, w której obecne są liczne nieprawidłowości immunologiczne, takie jak: wysokie stężenie IgE, odmienna ekspresja CD23 (receptor o niskim powinowactwie dla IgE – FcεRII) na limfocytach B krwi obwodowej, wzmożona ekspresja cytokin o profilu Th2 w skórze i krwi obwodowej z towarzyszącym spadkiem produkcji INF-γ.

Cel pracy. Ocena ekspresji CD23 na limfocytach B we krwi obwodowej oraz surowiczego stężenia kilku cytokin: IL-4, IL-10, IL-12 u dzieci z ZAZS. Ponadto badano, czy istnieje korelacja pomiędzy badanymi parametrami a ciężkością choroby.

Material i metody. Badaniem objęto 44 dzieci z ZAZS (średnia wieku 8,2), w tym 13 – z lekką, 15 – z średnią i 16 – z ciężką postacią ZAZS. Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych dzieci, w podobnym wieku.

Wyniki. U dzieci z ZAZS wykazano, że bezwzględna liczba limfocytów B CD23 jest wyższa niż u zdrowych ($p=0,008$). Nie wykazano związku pomiędzy stężeniem IgE i badanymi cytokinami, stopniem ciężkości ZAZS a ekspresją CD23 na limfocytach B. U dzieci z ZAZS stwierdzono znamienne niższe stężenie IL-4 ($p=0,0008$) oraz istotnie wyższe stężenie IL-10 ($p=0,00009$), które dodatkowo korelowało z całkowitym stężeniem IgE ($p=0,0066$ $R=0,4$). Ciężkość ZAZS istotnie korelowała ze stężeniem IgE ($p=0,000004$, $R=0,55$).

Wnioski. ZAZS łączy się z wysokim stężeniem IL-10, co może mieć wpływ na obniżenie produkcji INF-γ. Zwiększona liczba limfocytów B CD23 w krwi obwodowej może potwierdzać znaczenie FcεRII w patogenezie ZAZS.

Alergia Astma Immunologia, 2004, 9(1), 39-44

Słowa kluczowe: zespół atopowego zapalenia skóry, CD23, IL-4, IL-10, IL-12

Introduction. Atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS) is a chronic inflammatory skin disorder with various immunological abnormalities such as: elevated serum IgE levels, aberrant expression of CD23 (low affinity IgE receptor) on B cells in peripheral blood, as well as increased expression of the type 2 cytokines in skin and in peripheral blood with a concomitant decrease in INF-γ production.

Aim of study. The aim of the study was to determine the expression of CD23 on B cells in peripheral blood and serum levels of several cytokines such as IL-4, IL-10, IL-12 in children with AEDS. We investigated if there was a relationship between those laboratory parameters and the severity of the disease.

Material and methods. The study involved 44 children (average age was 8.2) including 13 with mild, 15 with moderate and 16 with severe AEDS. The control group consisted of 30 healthy children at similar age.

Results. There was a significant increase in the absolute number of B cells expressing CD23 in children with AEDS ($p=0.008$) compared with healthy controls. Expression of CD23 on B cells did not correlate with serum IgE and cytokine levels, and the severity of AEDS. The serum level of IL-4 was significantly decreased ($p=0.0008$), and the level of IL-10 was significantly increased ($p=0.00009$) in patients with AEDS compared with healthy controls. However, IL-10 was positively correlated with total serum IgE level in patient with AEDS ($p=0.0066$, $R=0.4$). Severity of AEDS was correlated with serum IgE level ($p=0.000004$, $R=0.55$).

Conclusions. AEDS is associated with increased serum level of IL-10, which can contribute to a decrease in INF-γ expression. Aberrant expression of CD23 on B cells in children with AEDS may be relevant to the pathogenesis of this disease.

Alergia Astma Immunologia, 2004, 9(1), 39-44

Key words: atopic eczema dermatitis syndrome, CD23, IL-4, IL-10, IL-12

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą dermatozą zapalną, która charakteryzuje się wybitnym świądem, typową morfologią i umiejscowieniem zmian skórnych. Choroba dotyczy głównie dzieci (10-30%), może jednak występować u dorosłych (1-3%). Etiologia AZS nie jest w pełni jasna i uwzględnia wpływ czynników genetycznych, zaburzeń immunologicznych, farmakologicznych, środowiskowych oraz nieprawidłową funkcję skóry [1,2]. Obecnie proponowane jest zastąpienie nazwy AZS terminem – zespół atopowego zapalenia skóry (ZAZS; *atopic eczema/dermatitis syndrom* – AEDS). Nowa terminologia podkreśla fakt, że AZS nie jest jednolitą jednostką chorobową, lecz obejmuje heterogenną grupę pacjentów o podobnym obrazie klinicznym. Obecna klasyfikacja uwzględnia podział na postać alergiczną ZAZS, w której stwierdza się wysokie stężenie IgE i obecność swoistych przeciwciał w klasie IgE (dawniej tzw. postać zewnątrzpochodna „*extrinsic*”) oraz na niealergiczny ZAZS, w którym stężenie IgE jest niskie i nie stwierdza się swoistych IgE (dawniej tzw. postać wewnątrzpochodna „*intrinsic*”) [3, 4].

Najczęściej opisywaną nieprawidłowością immunologiczną w ZAZS jest wysokie stężenie IgE (tzw. alergiczny związek z IgE ZAZS). Wzmocniona ekspresja receptorów dla IgE stwierdzana na licznych komórkach, włączając komórki Langerhansa w skórze wskazuje na ich kluczową rolę w ZAZS. Udział aktywnych limfocytów T będących źródłem prozapalnych cytokin w patogenie ZAZS został udokumentowany w licznych badaniach [5,6].

Celem pracy była ocena ekspresji receptorów o niskim powinowactwie dla IgE- FcεRII (CD23) na limfocytach B krwi obwodowej oraz określenie surowiczego stężenia IL-4, IL-10 i IL-12 u dzieci z ZAZS. Ponadto badano, czy istnieje zależność pomiędzy stopniem ciężkości ZAZS, a stężeniem cytokin i ekspresją CD23 na limfocytach B.

PACJENCI I METODY

Pacjenci

Grupę badaną stanowiło 44 dzieci (średnia wieku $8,2 \pm 1,1$), które spełniały kryteria diagnostyczne ZAZS wg Hanifina i Rajki [7]. U 42 dzieci rozpoznano alergiczną postać ZAZS (wysokie stężenie IgE i obecne swoiste IgE). Stopień ciężkości choroby oceniano na podstawie skali punktowej (SCORAD index) [8]. Łagodną postać choroby rozpoznano u 13 dzieci, średnią u 15, a ciężką u 16 dzieci. SCORAD index (punktowa ocena nasilenia i rozległości zmian skórnych oraz objawów subiektywnych) wynosił odpowiednio: $11,5 \pm 2,2$ w postaci łagodnej, $24,3 \pm 2,5$ w postaci średnio-ciężkiej i $52,3 \pm 1,3$ w ciężkim ZAZS. Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych dzie-

ci (średnia wieku $6,8 \pm 1,23$) nieobciążonych chorobami atopowymi oraz z ujemnymi wynikami punktowych testów skórnych (PTS) z alergenami pyłków i roztoczy.

Metody

Oznaczenie CD23 na limfocytach B dokonano metodą cytometrii przepływowej. Zastosowano standardową technikę immunofluorescencyjnego znakowania komórek zgodnie z wymogami podanymi przez producenta. Pełną krew żylną inkubowano przez 30 min z przeciwciałami nonoklonalnymi, a następnie przez 10 minut z płynem lizującym FACSlysis (Becton Dickinson), rejestrując 1000 komórek w każdej próbce. Próbkę kontrolną stanowiła zawiesina mysich immunoglobulin IgG1(FITC)+IgG2a(PE). Celem dokładnego ustawienia ramki limfocytarnej stosowano kombinację przeciwciał CD14(PE) i CD45(FICT). Do znakowania badanych komórek użyto przeciwciała CD23(PE) (clone EBVCS-5). Do kalibracji cytometru, czyli ustawienia parametrów FCS (rozproszenie promienia biegnącego wprost) i SSC (rozproszenie boczne) użyto kalibratora CaliBRITE™₃ (Becton Dickinson).

Stężenie cytokin- IL-4, IL-10, IL-12 oznaczano metodą ELISA (Quantikine human, R&D system Europe, UK). Pomiaru absorpcji dokonano za pomocą automatycznego czytnika Elx800 firmy BIO-TEK Instruments (USA) przy długości fali zalecanej przez producenta. Czulość zestawu dla: IL-10 > 3,9 pg/ml, dla IL-4 > 10 pg/ml 31,2 pg/ml, dla IL-12 > 5 pg/ml.

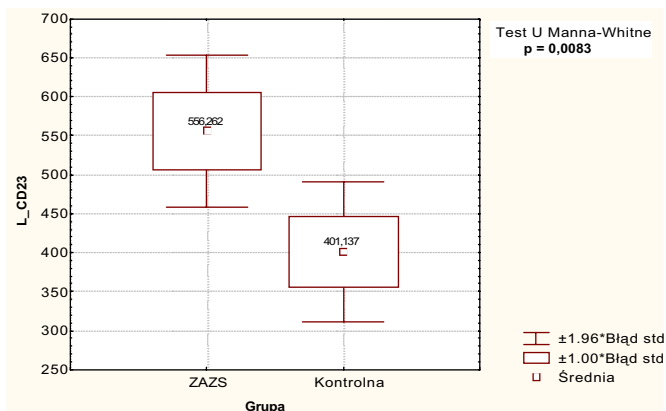
Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczano średnie i odchylenia standardowe (SD). Porównania średnich dokonano testem U-Manna Whitneya i Kurksala Wallisa przyjmując poziom istotności statystycznej $p < 0,05$. Korelacje wybranych parametrów przeprowadzono testem Spearmana.

WYNIKI

Limfocyty B (CD19) CD23

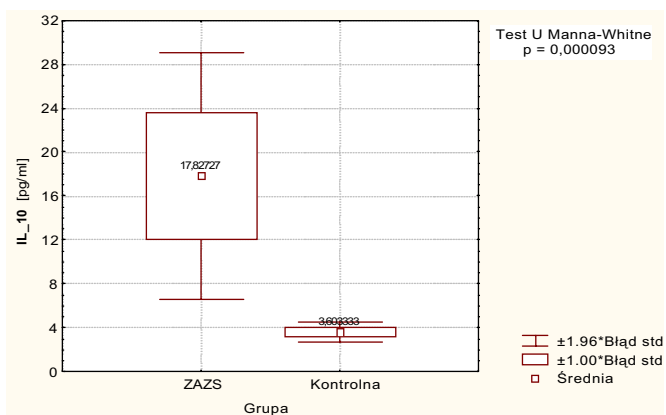
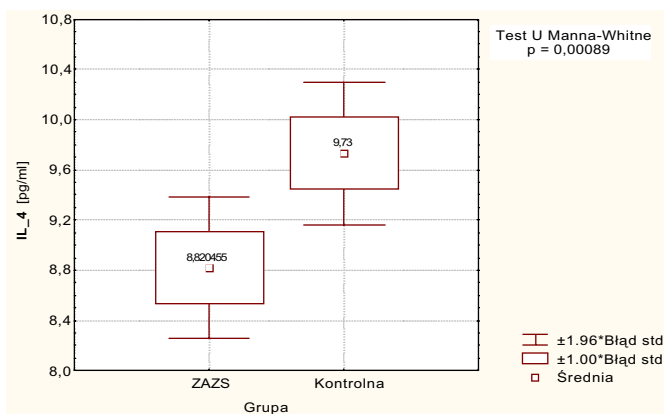
W badanych grupach wartości odsetkowe oraz bezwzględne limfocytów krwi obwodowej były podobne i wynosiły: u dzieci z ZAZS – 3079 ± 1114 ($43,2\% \pm 10,8\%$), a dzieci zdrowych – 2659 ± 734 ($43\% \pm 10,6\%$). Wartości odsetkowe limfocytów B CD 23 były wyższe u dzieci z ZAZS (%CD23-17,5; 95%CI: 14,9-19,3), ale różnica nie była istotna statystycznie ($p=0,06$) w stosunku do wartości obserwowanych u zdrowych (%CD23-14,63; 95%CI: 12,2-16,98). Z kolei bezwzględna liczba limfocytów B CD23 była istotnie wyższa w grupie badanej ($p=0,008$) (ryc. 1).



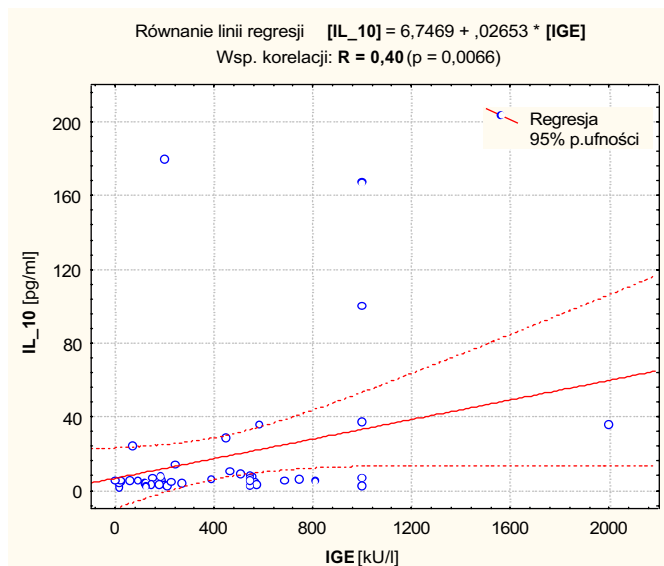
Ryc. 1. Porównanie liczby limfocytów B CD23 w badanych grupach. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie. Test U-Manna Whitney, p=0,008

Surowicze stężenie cytokin IL-4, IL-10, IL-12

Stężenie IL-4 było istotnie niższe (p=0,0008), a stężenie IL-10 było istotnie wyższe u dzieci z ZAZS (p=0,00009) (ryc. 2). Nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniem IL-12 u dzieci z ZAZS (3,4 pg/ml; 95%CI: 6,2-29,4), a grupą kontrolną (2,62 pg/ml; 95%CI: 1,8-3,9). Ponadto wykazano istotną korelację pomiędzy stężeniem IL-10 i stężeniem IgE (p=0,0066, R= 0,4) (ryc. 3)



Ryc. 2. Porównanie surowiczego stężenia IL-4 i IL-10 w badanych grupach. Różnice pomiędzy grupami istotne statystycznie. Test U-Manna Whitney, IL-4 p=0,0008, IL-10 p=0,00009



Ryc. 3. Wykres zależności stężenia IgE od stężenia IL-10. Test korelacji rang Spearmana. Korelacja dodatnia o średnim nasileniu (R=0,4, p=0,0066)

Związek ciężkości ZAZS ze stężeniem cytokin i CD23

Nie stwierdzono powiązania pomiędzy stopniem ciężkości ZAZS a stężeniem badanych cytokin. Ekspresja CD23 była podobna w grupach o różnym stopniu nasilenia zmian skórnych. Stopień ciężkości ZAZS korelował ze stężeniem IgE (p=0,000004, R=0,55).

DYSKUSJA

Nowoczesna diagnostyka umożliwia ocenę szeregu zaburzeń immunologicznych w ZAZS. I tak analiza immunofenotypowa wykazała odmienną ekspresję markerów powierzchniowych na komórkach krwi obwodowej oraz w skórze w zależności od postaci i stopnia ciężkości AZS. Wykazano również, że wewnątrzkomórkowa ekspresja i stężenie cytokin, zależy nie tylko od fazy zapalenia, ale jest różne w alergicznym i niealergicznym ZAZS [5,9,10,11].

Dysregulacja dotycząca IgE jest najbardziej charakterystyczną cechą ZAZS. Wysokie stężenie IgE, przekraczające często ponad 100-krotnie wartości obserwowane u zdrowych, dotyczy 80% pacjentów. W ZAZS obecna jest także wzmożona ekspresja receptorów dla IgE na wielu komórkach [12,13]. O ile rola receptorów o wysokim powinowactwie dla IgE (FcεRI) w inicjowaniu i podtrzymywaniu odpowiedzi immunologicznej została dobrze udokumentowana, to znaczenie FcεRII nie jest w pełni jasne. U chorych z ZAZS wykazano zwiększoną ekspresję CD23 na limfocytach B i monocytach krwi obwodowej oraz w skórze na komórkach prezentujących antygen (APC) – dojrzałych makrofagach i komórkach Langerhansa [11,14,15,16].

W naszej pracy wykazaliśmy, że wartości odsetkowe limfocytów B CD23 u dzieci z ZAZS były wyższe, ale nie różniły się istotnie od obserwowanych u zdrowych. Natomiast bezwzględna liczba limfocytów B CD23 była znamienne wyższa u dzieci chorych. W kilku pracach wykazano, że wzmożona ekspresja CD23 dotyczy tylko pacjentów z alergicznym ZAZS [11,15,17]. W naszej pracy nie przeprowadzaliśmy takiej analizy, ponieważ tylko 2 dzieci miało prawidłowe stężenie IgE i ujemne PTS.

Uważa się, że zwiększona ekspresja CD23 na limfocytach B poprzez związanie kompleksu IgE-antygen może ułatwiać prezentację antygenów limfocytom T i w ten sposób modulować odpowiedź immunologiczną. Udowodniono, że zwiększona ekspresja CD23 w ZAZS dotyczy szczególnie subpopulacji limfocytów B 7.2 (CD86) [18]. Jak wiadomo ekspresja FcεRII zwiększa się pod wpływem IL-4. Wykazano, że wpływ IL-4 na ekspresję CD23 jest znamienne wyższy w ZAZS niż u zdrowych [11,19]. Z badań *in vitro* wynika, że związanie FcεRII na makrofagach stymuluje wydzielanie IL-10, tak więc wzmożona ekspresja receptora CD23 u chorych z ZAZS może przyczyniać się do wzrostu uwalniania tej cytokiny [20]. Dodatkowo u chorych z ZAZS, u których stwierdzono dodatnie atopowe testy płatkowe z alergenami powietrzno pochodnymi (APT – *atopy patch test*), wykazano wzmożoną ekspresję receptora FcεRII [21]. Ponadto obserwowano spadek ekspresji CD23 w skórze zmienionej zapalnie w miarę ustępowania zmian w wyniku zastosowanej terapii [16,22]. W naszym badaniu ekspresja CD23 na limfocytach B nie zależała od stopnia ciężkości choroby i surowiczego stężenia IL-4, IL-10, IL-12. Podobnie jak w innych badaniach ekspresja CD23 nie korelowała ze stężeniem IgE [23].

Obecnie wiadomo, że limfocyty Th1 i Th2 biorą udział różnych etapach zapalenia w przebiegu ZAZS. W ostrej fazie zapalenia obecne są nacieki z limfocytów T oraz wzmożona jest ekspresja IL-4, IL-5, IL-13, podczas gdy w fazie przewlekłej dominuje IL-5, GM-CSF, IL-12, INF-γ oraz nacieki z eozynofiliów i makrofagów. Badania eksperymentalne wykazały, że alergenowo-specyficzne limfocyty T uzyskane z krwi odwodowej pacjentów z ZAZS uwalniają cytokiny Th1 i Th2 [1,24,25,26].

W naszym badaniu oznaczaliśmy surowicze stężenie IL-4, IL-10, IL-12. Wykazaliśmy, że stężenie IL-10 w ZAZS jest istotnie wyższe niż u zdrowych. Wiadomo, że źródłem IL-10 są przede wszystkim monocyty, makrofagi i limfocyty Th2, dlatego większość badań przeprowadzonych u chorych z ZAZS dotyczyła wewnątrzkomórkowej ekspresji i uwalniania IL-10 po stymulacji komórek. I tak udowodniono, że niestymulowane komórki mononuklearne krwi obwodowej (PBMC) oraz limfocyty T chorych z ZAZS wykazują wzmożoną ekspresję IL-10, która zwiększa się po stymulacji komórek [27,28,29]. W sprzeczności z powyższymi wynikami są badania Yashizawy i wsp., którzy nie stwierdzili różnic

w surowiczym stężeniu IL-10 pomiędzy ZAZS i zdrowymi [30] oraz Snijdersa i wsp., którzy nie wykazali wzrostu wydzielania IL-10 z PBMC po stymulacji LPS [31]. Wyniki naszych badań są zgodne z badaniami Aleksza i wsp., w których podobnie jak w naszych stwierdzono znamienne wyższe surowicze stężenie IL-10 u chorych z ZAZS [32]. Wykazaliśmy również istotną korelację pomiędzy stężeniem IL-10 i IgE, co można wytłumaczyć hamującym wpływem IL-10 na limfocyty Th1 i obniżeniem syntezy INF-γ. Jak wiadomo stężenie INF-γ odwrotnie koreluje ze stężeniem IgE. W badaniach eksperymentalnych udowodniono, że zablokowanie IL-10 podnosi stężenie INF-γ w PBMC [33,34].

Obecnie uważa się, że wysokie stężenie IgE i eozynofilia w ZAZS odzwierciedlają wzmożoną ekspresję cytokin o profilu Th2: IL-4, IL-13. W naszym badaniu stwierdziliśmy, że stężenie IL-4 w surowicy było znamienne niższe niż u zdrowych, co jest trudne do wytłumaczenia. Wprawdzie istnieje wiele kontrowersji odnośnie IL-4 i jedynie w części badań wykazano wzmożoną wewnątrzkomórkową ekspresję IL-4 w limfocytach T CD4+ i PBMC krwi obwodowej u chorych z ZAZS [35,36]. W pozostałych badaniach wewnątrzkomórkowa ekspresja IL-4 w ZAZS była podobna lub znamienne niższa niż u zdrowych, a stymulacja komórek octanem myrystaninu forbolu (PMA) i ionomycyną nie powodowała wzrostu wydzielania cytokiny [32,37,38]. Jeśli chodzi o surowicze stężenie IL-4 w ZAZS, to wyniki badań wykazują również spore rozbieżności – od wartości podobnych do obserwowanych u zdrowych do nieznacznie podwyższonych [15,32]. Autorzy prac podkreślają, że rozbieżne wyniki badań mogą wynikać z zastosowanych metod badawczych, a także z odmienności badanych chorych pod względem stopnia zaawansowania choroby i wieku pacjentów [39].

Należy również podkreślić, że w chorobach alergicznych, w tym ZAZS stwierdza się wysokie stężenia rozpuszczalnego receptora dla IL-4 (sIL-4r), który jako naturalny immunoregulator ogranicza prozapalne działanie IL-4 i niewykluczone, że wpływa na surowicze stężenie cytokiny [15]. Wprawdzie wyniki naszych badań nie potwierdzają udziału IL-4 w ZAZS, ale nie wykluczają jej udziału w fazie wstępnej odpowiedzi immunologicznej. Prawdopodobnie IL-13 jest główną cytokiną w ZAZS odpowiedzialną za aktywację limfocytów B i wzmożoną syntezę IgE. Potwierdzają to wyniki badań histologicznych skóry, w których stwierdzono obecność IL-13 w komórkach zapalnych, a także istotnie wyższe surowicze stężenie w porównaniu do zdrowych [11,36,40]. Z przeprowadzonych badań wynika, że zablokowanie IL-4, nie jest wystarczające do zahamowania syntezy IgE [11].

Wykazaliśmy również, że stężenie IgE w surowicy korelowało ze stopniem ciężkości ZAZS, co potwierdzają inne badania [30,38]. Stężenie IL-12 nie różniło się pomiędzy badanymi grupami. IL-12 jak wiadomo indukuje

różnicowanie i dojrzewanie limfocytów Th1. Uważa się, w ZAZS jest odpowiedzialna za zmianę profilu cytokin z Th2 do Th1. W dodatnich atopowych testach płatkowych (APT) stwierdzono, że wzmożona ekspresja IL-12 poprzedza obecność INF- γ w zmianach skórnych. Źródłem IL-12 są eozynofile i makrofagi, które pojawiają się w późnej fazie zapalenia [24]. Wzmożoną ekspresję IL-12 wykazano w przewlekłych zmianach skórnych, choć w większości badań, podobnie jak w naszym, nie stwierdzono różnic odnośnie stężenia IL-12 w surowicy w ZAZS i zdrowych [40,41].

Zwiększona liczba limfocytów B CD23 we krwi obwodowej u dzieci z ZAZS, którą stwierdziliśmy w na-

szych badaniach może ułatwiać IgE- zależną prezentację antygenów limfocytom T i wpływać na charakter odpowiedzi immunologicznej. Surowicze stężenie IL-4, IL-10, IL-12 i ekspresja CD23 na limfocytach B krwi obwodowej nie odzwierciedlają nasilenia zmian skórnych, w przeciwieństwie do stężenia IgE, które koreluje ze stopniem ciężkości ZAZS. Wysokie stężenie IL-10 u dzieci z ZAZS poprzez hamowanie LTh1 i obniżenie syntezy INF- γ może pośrednio wpływać na wzrost stężenia IgE. Niskie stężenie IL-4 w surowicy, stwierdzone w grupie badanych dzieci z ZAZS, może wynikać z odrębności badanej grupy pod względem wieku i przebiegu choroby. Na podstawie surowiczego stężenia IL-4 trudno ocenić rolę, jaką odgrywa IL-4 w patogenezie ZAZS.

Piśmiennictwo

- Leung DYM, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 2003; 361: 151-160.
- Eigenmann PA. Clinical features and diagnostic criteria of atopic dermatitis in relation to age. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12 (suppl. 14): 69-74.
- Johansson SGO, Hourihane J, Bousquet J i wsp. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001; 56: 813-824.
- Wuthrich B, Schmidt-Grendelmeier P. The atopic eczema / dermatitis syndrome. Epidemiology, natural course, and immunology of the IgE-associated („extrinsic”) and the nonallergic (“intrinsic”) AEDS. *J. Investing Allergol Clin Immunol* 2003; 139: 1-5.
- Leung DYM. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 99-108.
- Werfel T, Wedi B, Wittman M i wsp. Atopic dermatitis – trigger factors and pathophysiology. *ACI International* 2001; 13: 85-90.
- Hanifin J, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1980; 92: 44-47.
- European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: the *SCORAD* index. *Dermatology* 1993; 186: 23-31.
- Silny W, Czarnecka-Operacz M. Atopowe zapalenie skóry-udział limfocytów T i komórek Langerhansa w rozwoju zmian skórnych. *Alergia Astma Immunologia* 2000; 5 (suppl.2): 15-20.
- Machura E, Halkiewicz F, Mazur B i wsp. Subpopulacje limfocytów krwi obwodowej u dzieci z zespołem atopowego zapalenia skóry. *Alergia Astma Immunologia* 2002; 7: 205-210.
- Akdis CA, Akdis M, Simon D i wsp. T cells and T cell-derived cytokines as pathogenic factors in the nonallergic form of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 628-634.
- von Bubnoff D, Nowak N, Kraft S i wsp. The central role of Fc ϵ R I in allergy. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28: 184-187.
- Novak N, Kraft S, Bieber T. Phenotypic and functional properties of antigen-presenting cells in atopic dermatitis. *ACI International* 2001; 13: 113-116.
- Buckley C, Rustin MHA, Ivison C i wsp. Differentiation and CD23 expression of peripheral blood monocytes in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1995; 133: 757-763.
- Novak N, Kruse S, Kraft S i wsp. Dichotomic nature of atopic dermatitis reflected by combined analysis of monocyte immunophenotyping and single nucleotide polymorphisms of the interleukin-4/interleukin-13 receptor gene: the dichotomy of extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 870-875.
- Latchman DJ, Xu XJ, Poulter LW i wsp. Chinese medical herbs in the treatment of Atopic dermatitis. *ACII* 2002; 14: 4-9.
- Simon D, Borelli S, Braathen LR i wsp. Peripheral blood mononuclear cells from IgE- and non-IgE associated allergic atopic eczema/ dermatitis syndrome (AEDS) demonstrate increased capacity of generating interleukin-13 but differ in their potential of synthesizing interferon-gamma. *Allergy* 2002; 57: 431-435.
- Jirapongsananuruk O, Hofer MF, Trumble EA i wsp. Enhanced expression of B7.2 (CD86) in patients with atopic dermatitis: a potential role in the modulation of IgE synthesis. *Immunol* 1998; 160: 4622-4627.
- Aiba S, Manome H, Yoshino Y i wsp. Alteration in the production of IL-10 and IL-12 and aberrant expression of CD23, CD83 and CD86 by monocyte or monocyte-derived dendritic cells from atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol* 2003; 12: 86-95.
- Dugas N, Vouldoukis I, Becherel P i wsp. Triggering of CD23b antigen by anti CD23 monoclonal antibodies induces interleukin-10 production by human macrophages. *Eur J Immunol* 1996; 26: 1394-1398.
- Buckley C, Ivison C, Poulter LW i wsp. Fc ϵ RII/CD23 receptor distribution in patch test reactions to aeroallergens in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1992; 99: 184-188.
- Banerjee P, Xu XJ, Poulter LW i wsp. Changes in CD23 expression of blood and skin in atopic eczema after Chinese herbal therapy. *Clin Exp Allergy* 1998; 3: 306-314.
- Saini SS, Klion AD, Holland SM i wsp. The relationship between serum IgE and surface levels of Fc ϵ 1 on human leukocytes in various diseases: correlation of expression with Fc ϵ RI on basophils but not on monocytes or eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 514-520.
- Grewe M, Bruijnzeel-Koomen CA, Schoepf E i wsp. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunol Today* 1998; 19: 395-361.

25. Schmidt-Grendelmeier P, Simon D, Simon H-U i wsp. Epidemiology, clinical features, and immunology of the "intrinsic" (non-IgE-mediated) type of atopic dermatitis (constitutional dermatitis). *Allergy* 2001; 56: 841-849.
26. Werfel T, Morita A, Grewe M, i wsp. Allergen specificity of skin-infiltrating T cells is not restricted to a 2-type cytokine pattern in chronic skin lesions of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1996; 107: 871-876.
27. Lee HJ, Lee HP, Ha SJ i wsp. Spontaneous expression of mRNA for IL-10, GM-CSF, TGF-beta, TGF-alfa, and IL-6 in peripheral blood mononuclear cells from atopic dermatitis, *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84: 553-558.
28. Lonati A, Licenziati S, Canaris AD i wsp. Reduced production of both Th1 and Tc1 lymphocyte subsets in atopic dermatitis (AD). *Clin Exp Immunol* 1999; 115: 1-5.
29. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ i wsp. Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions. *J Immunol* 1995; 154: 1956-1963.
30. Yoshizawa Y, Nomaguchil H, Izaki S i wsp. Serum cytokine levels in atopic dermatitis.: *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 225-229.
31. Snijders A, van der Pouw Kraan TCMT, Engel M i wsp. Enhanced prostaglandin E2 production by monocytes in atopic dermatitis (AD) is not accompanied by enhanced production of IL-6, IL-10, or IL-12. *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 472-476.
32. Aleksza M, Irinyi B, Lukacs A i wsp. Increased frequency of intracellular interleukin (IL)-13 and IL-10, but not IL-4, expressing CD4+ and CD8+ peripheral T cells of patient with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2002; 147: 1135-1141.
33. Barnes P. IL-10: a key regulator role of allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 667-669.
34. Lester MR, Hofer MF, Gataley M i wsp. Down-regulation effects of IL-4 and IL-10 on the INF-gamma response in atopic dermatitis. *J Immunol* 1995; 154: 6174-6181.
35. Nakazawa M, Sugi N, Kawaguchi H i wsp. Predominance of type cytokine-producing CD4+ and CD8+ cells in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 677-682.
36. Kaminishi K, Soma Y, Kawa Y i wsp. Flow cytometric analysis of IL-4, IL-13 and INF-gamma expression in peripheral blood mononuclear cells and detection of circulating IL-13 in patients with atopic dermatitis provide evidence for the involvement of type 2 cytokines in the disease. *J Dermatol SCI* 2002; 29: 19-25.
37. Nakagawa S, Aiba S, Tagami H. Decreased frequency of interferon-gamma-producing CD4+ cells in the peripheral blood of patients with atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 1998; 7: 112-118.
38. Kallstrom E, Roscher I, Andreasson A i wsp. Decreased frequency of intracellular IFN-gamma-producing T cells in whole blood preparations from patients with atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2002; 11: 556-563.
39. Niva Y, Akamtsu H, Sumi H, i wsp. Evidence for degradation of cytokines in the serum of patients with atopic dermatitis by calcium-dependent protease. *Arch Dermatol Res* 2000; 292: 391-396.
40. Hamid Q, Naseer T, Minshal EM, i wsp. In vivo expression of IL-12 and IL-13 in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 225-231.
41. Yawalkar N, Karlen S, Egli F i wsp. Down-regulation of IL-12 by topical corticosteroids in chronic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 941-947.