

STRESZCZENIE

Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry (akzs, alergiczny wyprysk kontaktowy, *allergic contact dermatitis*, ACD) jest przewlekłą, zapalną dermatozą występującą u 15%-20% ogólnej populacji świata. Choroba ta jest alergenowo-swoistą reakcją nadwrażliwości opóźnionej typu IV wg Gella i Coombsa. Główną rolę w patogenezie schorzenia odgrywają subpopulacje limfocytów T: CD8⁺ (limfocyty cytotoksyczne, *cytotoxic T cells*, Tc) oraz CD4⁺ (limfocyty pomocnicze, *helper T cells*, Th), podkreśla się znaczenie regulatorowych limfocytów T (*regulatory T cells*, Treg). Badania ostatnich lat wskazują również na udział mechanizmów odporności wrodzonej i należących do niej komórek: neutrofilów i monocytów. Zmiany wypryskowe rozwijają się najczęściej w miejscu oraz w otoczeniu miejsca kontaktu z alergenem. Mogą powstawać również w okolicach odległych, tworząc obraz wyprysku rozsianego. Mechanizmy regulujące przebieg reakcji alergicznej, zwłaszcza w przypadku postaci rozsianej choroby, są złożone i nie do końca poznane. W mechanizmie patogenetycznym schorzenia brana jest pod uwagę rola między innymi receptorów toll-like (TLR) oraz osteopontyny (*osteopontin*, OPN).

Receptory toll-like są glikoproteinami występującymi na powierzchni wielu komórek układu immunologicznego m.in. na monocytach i neutrofilach. Stanowią element odporności nieswoistej (wrodzonej) i pośredniczą w stymulacji komórek odporności swoistej (nabytej). Rola tych receptorów w rozwoju schorzeń alergicznych jest słabo poznana. W badaniach u myszy stwierdzono zdolność TLR2 i TLR4 do wiązania fragmentów endogennej macierzy zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix*, ECM) i stymulacji odpowiedzi immunologicznej bez udziału czynnika infekcyjnego, co może mieć znaczenie w rozwoju i przebiegu reakcji zapalnej w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry.

Limfocyty regulatorowe stanowią populację limfocytów CD4⁺, które biorą udział w utrzymaniu tolerancji na własne antygeny oraz wykazują zdolność supresji odpowiedzi immunologicznej poprzez hamowanie aktywacji, proliferacji i funkcji limfocytów efektorowych CD4⁺ i CD8⁺. W dotychczasowych badaniach stwierdzono rolę limfocytów regulatorowych w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry, jednak ich funkcja i mechanizmy, za pomocą których Treg regulują proces zapalny w skórze są słabo poznane. Wykazano zwiększoną liczbę Treg w skórze objętej procesem zapalnym, co sugeruje, że wywierają one działanie tłumiące reakcję zapalną w ACD.

Osteopontyna jest kwaśną fosfoglikoproteina, wytwarzaną przez m.in. komórki układu immunologicznego: limfocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne. Występuje w dwóch izoformach: wydzielanej pozakomórkowo (*secreted osteopontin*, sOPN) i wewnątrzkomórkowej (*intracellular osteopontin*, iOPN). W dotychczasowych badaniach stwierdzono nasilone wydzielanie sOPN przez keratynocyty i efektorowe limfocyty T w obrębie zmian wypryskowych w skórze myszy oraz wzrost stężenia sOPN w surowicy u chorych z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry w ostrym okresie choroby.

Celem pracy była ocena ekspresji receptorów TLR2 i TLR4 na monocytach i granulocytach obojętnochłonnych, ocena populacji limfocytów T $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$, $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$ oraz subpopulacji limfocytów T $CD4^+$ wytwarzających wewnątrzkomórkową osteopontynę we krwi chorych z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry.

Badania przeprowadzono u 59 dorosłych pacjentów z rozsianą postacią alergicznego kontaktowego zapalenia skóry. Rozpoznanie rozsianej postaci alergicznego kontaktowego zapalenia skóry ustalono na podstawie wywiadu chorobowego oraz charakterystycznej morfologii zmian skórnych. Nasilenie i rozległość zmian skórnych oceniono w oparciu o wskaźnik EASI (*eczema area and severity index*). U chorych z akks krew do badań była pobierana dwukrotnie: w ostrym okresie choroby oraz w okresie remisji zmian skórnych. W grupie I (33 chorych i 25 osób grupy kontrolnej) oceniano ekspresję receptorów TLR2 i TLR4 na monocytach i neutrofilach. W grupie II (26 chorych i 21 osób zdrowych) badano limfocyty T wytwarzające wewnątrzkomórkową osteopontynę. W obu badanych grupach oceniano populacje limfocytów T $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$ i $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$. Ocena ekspresji receptorów TLR2 i TLR4, populacji limfocytów $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$ i $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$ oraz limfocytów T z ekspresją wewnątrzkomórkowej osteopontyny została przeprowadzona metodą cytometrii przepływowej (Cytomics FC500, Beckman Coulter).

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały istotny wzrost subpopulacji monocytów krwi obwodowej z ekspresją receptorów TLR2 i TLR4 u chorych w ostrym okresie choroby w porównaniu z chorymi w okresie remisji i osobami zdrowymi. U chorych w ostrym okresie choroby obserwowano również wzrost odsetka aktywowanych limfocytów $CD4^+$ o fenotypie $CD4^+CD25^+$ oraz obniżony odsetek limfocytów regulatorowych definiowanych jako subpopulacja $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$. Wielkość subpopulacji limfocytów $CD4^+CD25^+$ wykazywała dodatnią korelację z nasileniem zmian skórnych. U pacjentów w ostrej fazie

choroby stwierdzono istotnie wyższy, w porównaniu z osobami zdrowymi, odsetek limfocytów T CD4⁺ wykazujących wewnątrzkomórkową ekspresję osteopontyny. Wzrost limfocytów z ekspresją iOPN utrzymywał się jeszcze w okresie remisji choroby.

Uzyskane wyniki badań sugerują, że w ostrym okresie choroby dochodzi do aktywacji monocytów za pośrednictwem receptorów TLR2 i TLR4, w okresie remisji zmian skórnych brak jest czynnika aktywującego te komórki lub wydzielane są, nieokreślone dotychczas w wyprysku alergicznym, czynniki hamujące ich funkcje.

Stwierdzenie obniżonej liczby limfocytów regulatorowych we krwi chorych w ostrym okresie akzs w stosunku do osób zdrowych może być związana z przemianą tej populacji w subpopulację limfocytów CD4⁺CD25⁺, których zwiększony odsetek stwierdzono w ostrym akzs lub może wskazywać na ich zwiększoną rekrutację do skóry. Dodatnia korelacja odsetka limfocytów CD4⁺CD25⁺ z wielkością wskaźnika EASI może stanowić pośredni dowód potwierdzający znaczenie aktywowanych limfocytów o fenotypie CD4⁺CD25⁺, obok limfocytów CD8⁺, jako komórek efektorowych w wyprysku alergicznym.

Wzrost populacji limfocytów T z wewnątrzkomórkową ekspresją osteopontyny, mogłby wskazywać na jej udział w ostrym okresie akzs. Uwzględniając wyniki wcześniejszych badań wykazujących wzrost stężenia sOPN we krwi chorych z ostrym akzs, mogłby wskazywać na pochodzenie sOPN z limfocytów krwi oraz możliwość przechodzenia iOPN w sOPN. Wyniki te również mogłby potwierdzać prozapalne działanie OPN w ostrym okresie akzs. Utrzymywanie się podwyższonego odsetka limfocytów T z ekspresją iOPN w okresie remisji zmian skórnych mogłoby wskazywać na przedłużoną obecność tych komórek we krwi, nie dochodzi jednak do uwalniania OPN z komórek T.