

# Brak związku polimorfizmu –590 C/T genu *IL-4* oraz –1082 A/G genu *IL-10* z rozwojem atopowego zapalenia skóry

The lack of association between –590 C/T *IL-4* and –1082 A/G *IL-10* gene polymorphisms and the development of atopic dermatitis

Marcin Zakrzewski<sup>1</sup>, Aleksandra Lesiak<sup>2</sup>, Karolina Przybyłowska<sup>3</sup>, Iwona Stelmach<sup>4</sup>, Piotr Kuna<sup>5</sup>, Anna Sysa-Jędrzejowska<sup>2</sup>, Joanna Narbutt<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddział Skórno-Wenerologiczny Szpitala Miejskiego w Sosnowcu

Ordynator: lek. med. Zofia Kijas-Kur

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

<sup>3</sup>Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Ireneusz Majsterek

<sup>4</sup>Oddział Kliniczny Interny Dziecięcej i Alergologii III Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Iwona Stelmach

<sup>5</sup>Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Piotr Kuna

Przegl Dermatol 2010, 97, 253–259

## STRESZCZENIE

### SŁOWA KLUCZOWE:

atopowe zapalenie skóry, polimorfizm –590 C/T genu *IL-4*, polimorfizm –1082 A/G genu *IL-10*, patogenezę.

### KEY WORDS:

atopic dermatitis, –590 C/T *IL-4* and –1082 A/G *IL-10* gene polymorphisms, pathogenesis.

### ADRES DO KORESPONDENCJI:

dr hab. n. med.

Joanna Narbutt

Katedra i Klinika

Dermatologii i Wenerologii

Uniwersytet Medyczny

ul. Krzemieniecka 5

94-017 Łódź

e-mail:

joanna.narbutt@umed.lodz.pl

**Wprowadzenie.** Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą, zapalną dermatozą, często współistniejącą z innymi chorobami atopowymi, takimi jak astma, alergiczny nieżyt nosa bądź spojówek. Wśród wielu czynników etiopatogenetycznych podłoże genetyczne, obejmujące polimorfizmy i mutacje w genach kodujących białka zaangażowane w prawidłową budowę bariery naskórkowej oraz odpowiedź immunologiczną, jest przedmiotem wielu prac badawczych. W patogenezie AZS szczególną rolę przypisuje się cytokinom Th2-zależnym, w tym interleukinom 4 i 10 (*IL-4* i *IL-10*).

**Cel pracy.** Ocena polimorfizmów regionu promotorowego –590 C/T genu *IL-4* oraz 1082 A/G genu *IL-10* u pacjentów z AZS zamieszkujących teren województwa łódzkiego.

**Materiał i metodyka.** Grupę badawczą stanowiło 163 chorych na AZS, u których rozpoznanie choroby ustalono na podstawie kryteriów Hanifina i Rajki, natomiast grupę kontrolną 204 zdrowych wolontariuszy. Nasilenie procesu chorobowego u wszystkich chorych oceniono przy użyciu skali Rajki i Langelanda. Analizę wariantów polimorficznych w regionie promotorowym genów *IL-4* i *IL-10* przeprowadzono metodą RFLP-PCR z wykorzystaniem enzymów restrykcyjnych do wykrywania zmian w sekwencji DNA.

**Wyniki.** Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmów –590 C/T dla *IL-4* oraz –1082 A/G genu *IL-10* między grupą pacjentów a grupą kontrolną ( $p > 0,05$  dla wszystkich porównań). W badanych polimorfizmach genów kodujących *IL-4* i *IL-10* rozkład genotypów nie różnił się statystycznie istotnie w grupie pacjentów mających łagodny przebieg AZS od chorych z AZS o umiarkowanym i ciężkim przebiegu. Nie stwierdzono ( $p > 0,05$ ) również związku między badanymi polimorfizmami genów *IL-4* i *IL-10* a wczesnym zachorowaniem na astmę.

**Wnioski.** Brak pozytywnej korelacji między obecnością polimorfizmów genów *IL-4* oraz *IL-10* a rozwojem AZS w badanej grupie chorych może świadczyć o odmienności genetycznej badanej populacji, a także o dużej różnorodności czynników genetycznych zaangażowanych w patogenezę tego schorzenia, zależnie od pochodzenia chorych.

#### ABSTRACT

**Introduction.** Atopic dermatitis (AD) is a chronic, inflammatory skin disease, often co-existing with other atopic diseases such as asthma, allergic rhinitis or conjunctivitis. Among multiple aetiopathogenic factors, genetic background including polymorphisms and mutations in genes encoding proteins involved in proper epidermal function and immune response are widely examined. Th-2 derived cytokines including IL-4 and IL-10 are believed to play a key role in AD pathogenesis.

**Objective.** The aim of the study was to assess -590 C/T for *IL-4* and -1082 G/A for *IL-10* polymorphisms in the promoter region.

**Material and methods.** The material included 163 AD patients and 204 healthy controls, living in central Poland. AD diagnosis was based on Hanifin and Rajka criteria. Intensity of AD was assessed according to Rajka and Langeland's scale. Polymorphisms in *IL-4* and *IL-10* promoter regions were assessed by RFLP-PCR.

**Results.** No significant differences in genotype distribution of all examined polymorphisms between AD patients and controls were found. No significant association between examined *IL-4* and *IL-10* polymorphisms and severity of AD or early asthma onset was revealed ( $p > 0.05$  for all comparisons).

**Conclusions.** The lack of a positive correlation between AD and analysed polymorphisms in Polish AD patients may indicate a distinct genetic background and high variety of genetic factors involved in AD pathogenesis.

#### WPROWADZENIE

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest uznawane za jedną z najczęściej występujących chorób skóry, szczególnie wieku dziecięcego [1]. Termin „atopia” wprowadzili w 1923 roku Coca i Cooke [1]. Pod tym pojęciem rozumie się genetycznie uwarunkowaną predyspozycję do rozwoju reakcji alergicznej typu natychmiastowego w odpowiedzi na powszechnie występujące w środowisku alergeny, wnikające do organizmu ludzkiego przez błony śluzowe dróg oddechowych lub przewodu pokarmowego [2].

Patogeneza AZS jest bardzo złożona. Bierze w niej udział wiele czynników genetycznych, immunologicznych i środowiskowych, których wzajemne interakcje nie są do końca poznane i stanowią temat wielu prowadzonych badań naukowych [3].

Rodzinne występowanie AZS, a także częste występowanie choroby u bliźniąt jednozygotycznych (72–86%) i dwuzzygotycznych (21–23%) jest silnym dowodem wskazującym na udział czynników genetycznych w rozwoju tej dermatozy [4].

Na podstawie uzyskiwanych wyników stwierdzono zależność między rozwojem AZS a genami zlokalizowanymi na chromosomie 5q31-33, kodującymi cytokiny Th2-zależne, takie jak: interleukiny IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 i czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (ang. *granulocyte macrophage - colony stimulating factor - GM-CSF*) [5–7]. Udział zaburzeń genetycznych w powstaniu AZS tłumaczono m.in. tym, że obecność określonych polimorfizmów w genach kodujących cytokiny Th2-zależne wiąże się funkcjonalnie z nasiloną syntezą przeciwciał IgE, co jest jedną z często występujących anomalii, zaliczaną również do mniejszych kryteriów diagnostycznych, a także stanowiącą podstawę do wyróżnienia postaci zewnątrzpochodnej i wewnątrzpochodnej choroby [8]. Ze względu jednak na odmienne wyniki uzyskiwane w poszczególnych populacjach, a także obiektywnie słabe zależności statystyczne, żaden z tych polimorfizmów nie został – jak na razie – uznany za kluczowy w rozwoju AZS.

Interleukina 4 (*IL-4*) odgrywa kluczową rolę w regulacji humoralnej odpowiedzi immunologicznej, zaangażowana jest bowiem w różnicowanie naiwnych limfocytów T-pomocniczych w kierunku efektorowych komórek Th2. Powoduje wzrost ekspresji cytokin Th2-zależnych, tj. *IL-5*, *IL-6*, *IL-9*, a także jest odpowiedzialna za zmianę klasy produkowanych immunoglobulin przez limfocyty B, z immunoglobulinami G i M (*IgG* i *IgM*) w kierunku immunoglobulin E (*IgE*). Interleukina 4 hamuje również odpowiedź Th1-zależną [9].

Badania dotyczące udziału polimorfizmów genu kodującego *IL-4* w rozwoju AZS były prowadzone w populacjach europejskich i pozaeuropejskich. W części z nich wykazano związek między występowaniem polimorfizmów a rozwojem choroby, jednak uzyskiwane wyniki nie były spójne, gdyż niektórzy autorzy takiej zależności nie potwierdzili [10, 11].

Kolejną cytokiną związaną z mechanizmami nabytej odpowiedzi immunologicznej jest *IL-10*. Nazywa się ją również czynnikiem hamującym syntezę cytokin (ang. *cytokine synthesis inhibitory factor* – *CSIF*), gdyż wykazuje działanie przeciwzapalne i hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych, takich jak interferon  $\gamma$  (*IFN- $\gamma$* ), *IL-2*, *IL-3*, czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (ang. *tumour necrosis factor* – *TNF- $\alpha$* ) czy *GM-CSF* [12, 13]. Wydzielana jest przez pobudzone limfocyty Th2 oraz limfocyty B, makrofagi, monocyty i keratynocyty. Ze względu na silne działanie przeciwzapalne *IL-10* wysunięto hipotezę, że zaburzenie jej wydzielania (tzn. zmniejszone stężenie w surowicy) może korelować z nasileniem procesu zapalnego w AZS [13, 14].

Podobnie jak w przypadku *IL-4*, prowadzono badania nad związkiem między polimorfizmami w genie kodującym *IL-10* a rozwojem AZS, których wyniki są nieliczne i niejednoznaczne [15–20]. Dotychczas, zgodnie z wiedzą autorów niniejszej pracy, nie przeprowadzono analizy wpływu polimorfizmu w genie kodującym *IL-10* na rozwój AZS w populacji polskiej.

Istotny udział *IL-4* i *IL-10* w rozwoju zapalenia alergicznego i AZS, nieliczne badania analizujące udział polimorfizmów w genach kodujących te białka, stosunkowo niejednoznaczne wyniki uzyskiwane w poszczególnych populacjach oraz – zgodnie z wiedzą autorów – brak badań prowadzonych w reprezentatywnej grupie polskich pacjentów spowodowały przeprowadzenie badań własnych, które stały się tematem niniejszej pracy.

## CEL PRACY

Ocena częstości występowania polimorfizmów –590 C/T w genie *IL-4* oraz –1082 A/G w genie *IL-10*

w populacji polskiej chorych na AZS, wpływu badanych polimorfizmów na nasilenie procesu chorobowego oraz ryzyko rozwoju astmy we wczesnym dzieciństwie, poniżej 3. roku życia.

## MATERIAŁ I METODYKA

### Materiał

Do badań zakwalifikowano 163 chorych na AZS (97 kobiet i 66 mężczyzn) w wieku od 1 roku do 42 lat (średnia wieku 11,3 roku) oraz 204 zdrowych ochotników (112 kobiet i 92 mężczyzn) dobranych odpowiednio pod względem wieku. Do rozpoznania AZS zastosowano kryteria zaproponowane przez Hanifina i Rajkę [21]. Nasilenie procesu chorobowego oceniono na podstawie skali Rajki i Langelanda i określono jako łagodne, umiarkowane i ciężkie [22].

U 78 chorych (47,8%) stwierdzono łagodną postać, u 66 (40,4%) umiarkowaną postać, a u 19 (11,6%) ciężką postać AZS. U 89 pacjentów (54,6%) rozpoznano zewnątrzpochodną postać tej choroby, podczas gdy postać wewnątrzpochodną występowała u 74 osób (45,4%). Postać zewnątrzpochodną rozpoznawano u pacjentów, u których stwierdzono duże stężenia całkowitych *IgE* (powyżej normy odpowiedniej dla wieku) oraz dodatnie testy punktowe. U 44 badanych chorych (26,9%) współistniała astma, u 79 osób (48,5%) rozpoznawano alergiczny nieżyt nosa, a u 32 pacjentów (19,6%) alergiczne zapalenie spojówek.

Projekt pracy został zaakceptowany przez Uczelnianą Komisję Bioetyki Badań Naukowych (numer decyzji RNN/208/06/KE z 28 listopada 2006 roku), a pacjenci i wolontariusze wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu.

### Metodyka

Ocena genotypu polimorfizmu genu *IL-4* i *IL-10*

DNA z krwi pełnej otrzymywano, używając zestawów do izolowania Genomic Mini AX Blood (DNA-Gdańsk II S.C.) zgodnie z zaleceniami producenta. Analizę wariantów polimorficznych w regionie promotorowym genów *IL-4* i *IL-10* przeprowadzono metodą RFLP-PCR (ang. *polymerase chain reaction* – *restriction fragment length polymorphism*) z wykorzystaniem enzymów restrykcyjnych do wykrywania zmian w sekwencji DNA [23, 24].

W reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. *polymerase chain reaction* – PCR) stosowano pary oligonukleotydów warunkujących amplifikację fragmentów zawierających miejsca polimorficzne, tj. –590 C/T

**Tabela I.** Sekwencje oligonukleotydów oraz enzymy restrykcyjne stosowane do wykrycia polimorfizmów *IL-4* –590 C/T i *IL-10* –1082 A/G

Polimorfizm	Sekwencje oligonukleotydów	Produkty PCR [pz]	Enzym restrykcyjny	Fragmenty restrykcyjne
IL-4 –590 C/T	5'-TGGGGAAAGATAGAGTAATA-3'	195	Ava II	allel C (177 pz i 18 pz),
	5'-TAAACTTGGGAGAACATGGT-3'			allel T (195 pz)
IL-10 –1082 A/G	5'-TCTTACCTATCCCTACTTCC-3'	139	MnI I	allel A (139 pz),
	5'-CTCGCTGCAACCCAACACTGGC-3'			allel G (106 pz i 33 pz)

dla *IL-4* i –1082 A/G dla *IL-10*. Sekwencje stosowanych oligonukleotydów warunkujące powstanie miejsca restrykcyjnego w produkcie amplifikacji przedstawiono w tabeli I. Amplifikację przeprowadzano w 25 µl mieszaniny reakcyjnej o następującym składzie: 40 ng genomowego DNA, 10 pM każdego z oligonukleotydów (Eurogentec, Seraing, Belgia), po 200 µM z dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 20 mM Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM KCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 U polimerazy Taq (QIAGEN GmbH, Hilden, Niemcy). Na poszczególnych etapach PCR zastosowano następujące warunki: denaturacja – 4 min w temperaturze 95°C, 35 cykli – 30 s w temperaturze 94°C, przyłączanie oligonukleotydów – 45 s w temperaturze 58°C dla *IL-4* i 61,8°C dla *IL-10*, wydłużanie – 40 s w temperaturze 72°C, oraz końcowe wydłużanie – 7 min w temperaturze 72°C. Reakcję PCR przeprowadzono w termocyklerze MultiGene TC9600 (Labnet International Inc.). Produkty amplifikacji (20 µl mieszaniny reakcyjnej PCR) poddawano trawieniu enzymami restrykcyjnymi *Ava* II dla *IL-4* i *MnI* I dla *IL-10*. Po trawieniu produktów 10 µl mieszaniny reakcyjnej mieszano z 2 µl buforu obciążającego i rozdzielano w 8% żelu poliakrylamidowym i wizualizowano w świetle ultrafioletowym z użyciem bromku etydyny. Długości fragmentów restrykcyjnych dla badanych polimorfizmów podano w tabeli I. Typowanie polimorfizmu genów dla *IL-4* i *IL-10* przeprowadzono w Zakładzie Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

### Analiza statystyczna

Istotność różnic między rozkładami genotypów w badanych grupach i rozkładem według prawa Hardy'ego-Weinberga oceniano testem  $\chi^2$ . Ocenę ryzyka współwystępowania poszczególnych genotypów z chorobą przeprowadzono z zastosowaniem ilorazu szans (ang. *odds ratio* – OR). Dla wszystkich wykorzystanych testów statystycznych przyjęto poziom istotności  $p = 0,05$ . Analizę statystyczną wykonano na podstawie programu STATISTICA.

### WYNIKI

#### Genotyp polimorfizmów –590 C/T genu *IL-4* i –1082 A/G genu *IL-10*

Rozkład genotypów polimorfizmów –1082 A/G genu *IL-10* był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga, podczas gdy rozkład genotypów polimorfizmu –590 C/T dla *IL-4* nie wykazywał takiej zgodności (tab. II).

Analizując polimorfizm –590 C/T genu *IL-4*, stwierdzono, że genotyp TT występował u 92 pacjentów (56,4%) oraz u 105 osób (51,5%) z grupy kontrolnej, podczas gdy genotyp CT u 67 chorych (41,1%) i 89 osób (43,6%) z grupy kontrolnej. Genotyp CC był obecny u 4 chorych (2,5%) na AZS i u 10 osób (4,9%) z grupy kontrolnej.

Badając częstość występowania polimorfizmu –1082 A/G genu *IL-10*, wykazano obecność genoty-

**Tabela II.** Rozkład genotypów analizowanych polimorfizmów

IL	Genotyp	Chorzy na AZS			Grupa kontrolna		
		obserwowane	oczekiwane	HWE (wartość p)	obserwowane	oczekiwane	HWE (wartość p)
IL-4	TT	92	69,3	0,041	105	109,6	0,102
	CT	67	78,3		89	79,9	
	CC	4	15,3		10	14,6	
IL-10	GG	34	31,4	0,401	48	41,9	0,087
	GA	75	80,3		89	101,1	
	AA	54	51,4		67	60,9	

HWE – prawo Hardy'ego-Weinberga

pu GG u 34 chorych (20,9%) i 48 ochotników (23,5%) z grupy kontrolnej. Genotyp GA występował u 75 chorych (46%) i u 89 osób (43,6%) z grupy kontrolnej. Wśród chorych na AZS genotyp AA obserwowano u 54 chorych (33,1%) oraz u 67 ochotników (32,8%) z grupy kontrolnej.

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmów -590 C/T dla *IL-4* oraz -1082 A/G genu *IL-10* między grupą pacjentów a grupą kontrolną ( $p > 0,05$  dla wszystkich porównań; tab. III).

W badanych polimorfizmach genów kodujących *IL-4* i *IL-10* rozkład genotypów nie różnił się statystycznie istotnie w grupie pacjentów o łagodnym przebiegu AZS i u chorych na AZS o umiarkowa-

nym i ciężkim przebiegu ( $p > 0,05$  dla wszystkich porównań; tab. IV). Nie wykazano również związku ( $p > 0,05$ ) między badanymi polimorfizmami genów *IL-4* i *IL-10* a wczesnym zachorowaniem na astmę (tab. V).

## OMÓWIENIE

Atopowe zapalenie skóry jest przewlekłą, nawrotową i zapalną chorobą skóry, przebiegającą ze świądem [25–27]. Obecnie schorzenie to uznaje się za jedną z najczęściej występujących chorób wieku dziecięcego, z częstością rozpoznawania 10–20% populacji w krajach rozwiniętych [27].

Tabela III. Związek polimorfizmów genów *IL-4* i *IL-10* z rozwojem AZS

Table III. The association between *IL-4* and *IL-10* gene polymorphisms and AD development

IL	Genotyp	Grupa kontrolna		Chorzy na AZS		Wartość p	OR	-95% CI	+95% CI
		N	%	N	%				
IL-4	TT	105	51,5	92	56,4	0,383	1	genotyp referencyjny	
	CT	89	43,6	67	41,1	0,482	0,859	0,563	1,311
	CC	10	4,9	4	2,5	0,198	0,457	0,138	1,505
IL-10	GG	48	23,5	34	20,9	0,816	1	genotyp referencyjny	
	GA	89	43,6	75	46,0	0,525	1,190	0,696	2,034
	AA	67	32,8	54	33,1	0,655	1,138	0,645	2,006

N – liczba badanych, OR (odds ratio) – iloraz szans, CI (confidence interval) – przedział ufności

Tabela IV. Związek polimorfizmów genów *IL-4* i *IL-10* z nasileniem AZS

Table IV. The association between *IL-4* and *IL-10* gene polymorphisms and AD severity

IL	Genotyp	Łagodny przebieg AZS		Umiarkowany i ciężki przebieg AZS		Wartość p	OR	-95% CI	+95% CI
		N	%	N	%				
IL-4	TT	42	53,8	48	57,8	0,878	1	genotyp referencyjny	
	CT	34	43,6	33	39,8	0,613	0,849	0,451	1,600
	CC	2	2,6	2	2,4	0,896	0,875	0,118	6,486
IL-10	GG	15	19,2	19	22,9	0,764	1	genotyp referencyjny	
	GA	38	48,7	36	43,4	0,485	0,748	0,331	1,692
	AA	25	32,1	28	33,7	0,781	0,884	0,372	2,101

N – liczba badanych, OR (odds ratio) – iloraz szans, CI (confidence interval) – przedział ufności

Tabela V. Związek między genotypami badanych polimorfizmów genów *IL-4* i *IL-10* a wczesnym początkiem astmy

Table V. The association between *IL-4* and *IL-10* gene polymorphisms and early onset of asthma

IL	Genotyp	Inne		Wczesny początek astmy (< 3. roku życia)		Wartość p	OR	-95% CI	+95% CI
		N	%	N	%				
IL-4	TT	15	55,6	10	58,8	0,997	1	genotyp referencyjny	
	CT	11	40,7	7	41,2	0,941	1,048	0,303	3,621
	CC	1	3,7	0	0,0	–	–	–	–
IL-10	GG	7	25,9	6	35,3	0,081	1	genotyp referencyjny	
	GA	14	51,9	3	17,6	0,101	0,250	0,048	1,310
	AA	6	22,2	8	47,1	0,569	1,556	0,340	7,110

N – liczba badanych, OR (odds ratio) – iloraz szans, CI (confidence interval) – przedział ufności

Badania genetyczne prowadzone w grupie osób chorych na AZS są ukierunkowane na poszukiwanie czynników predysponujących do jego rozwoju. Do czynników genetycznych zwiększających ryzyko zachorowania zalicza się zmiany w sekwencji genów kodujących białka, których funkcja biologiczna wiąże się z rozwojem chorób atopowych. Cytokiny wydzielane przez limfocyty Th2, do których należą m.in. IL-4, IL-10, IL-5 i IL-13, są zaangażowane w patogenezę AZS [26].

Interleukina 4 jest cytokiną prozapalną, która wpływa na adhezję eozynofiliów do komórek śródbłonki w miejscu toczącego się procesu zapalnego poprzez zwiększenie ekspresji cząsteczki adhezji komórkowej naczyń (ang. *vascular cell adhesion molecule 1* – VCAM-1) [28–30].

Hamid i wsp. [31] wykazali zwiększoną ekspresję mRNA dla IL-4 w obrębie ognisk chorobowo zmienionych u pacjentów z AZS w porównaniu ze skórą niezmienną chorobowo, a także skórą osób zdrowych. Ze względu na udowodniony udział IL-4 w patogenezie AZS przeprowadzono badania analizujące związek polimorfizmów w genie kodującym tę cytokinę z rozwojem tej dermatozy. W dostępnym piśmiennictwie nie ma analogicznych badań przeprowadzonych w reprezentatywnej grupie populacji polskiej chorych na AZS.

W badaniach przeprowadzonych w populacji japońskiej wykazano związek polimorfizmu -590 T/C w regionie promotorowym *IL-4* z rozwojem AZS [10]. Zależności tej nie potwierdziły wyniki kolejnych badań japońskich przeprowadzonych w większej grupie pacjentów [11]. Soderhall i wsp. [32], analizując udział opisywanego polimorfizmu, wykazali jego wpływ na nasilenie procesu chorobowego AZS. Kolejne badania przeprowadzone w populacji kaukaskiej wykazały związek między występowaniem tego polimorfizmu a wczesnym rozwojem AZS, przed 2. rokiem życia [33]. Obserwacji tych nie potwierdzili natomiast badacze australijscy, którzy analizowali częstość występowania polimorfizmów -590 C/T i -34 C/T genu dla *IL-4* oraz ich zależność z rozwojem AZS. Badacze ci wykazali natomiast związek między rozwojem AZS a obecnością haplotypu -590 C/-34C [34]. Również w badaniach własnych nie wykazano statystycznie istotnej zależności między występowaniem polimorfizmu -590 C/T *IL-4* a rozwojem oraz nasileniem procesu chorobowego w przebiegu AZS. Podobnie nie obserwowano związku między analizowanym polimorfizmem a wczesnym, poniżej 3. roku życia, początkiem astmy. Najrzadziej obserwowanym genotypem – zarówno u osób zdrowych, jak i chorych – był CC (4,9% w grupie kontrolnej, 2,5% w grupie chorych), najczęściej natomiast występował genotyp TT (51,5% w grupie kontrolnej oraz 56,4% w grupie osób cho-

rych). W niektórych opublikowanych badaniach wykazano również związek polimorfizmów genu dla receptora *IL-4* i AZS. Obecność polimorfizmu 1727G/A łączyła się z częstszym występowaniem zmian wypryskowych w okolicach zgięciowych w pierwszych 6 miesiącach życia [35].

Dotychczas, zgodnie z wiedzą autorów, nie przeprowadzono analizy wpływu polimorfizmu w genie kodującym *IL-10* na rozwój AZS w populacji polskiej. Dotąd analizowano związek różnych polimorfizmów regionu promotorowego *IL-10* (-1082 A/G, -819 T/C, -571 C/A, -854 C/T, -1117 G/A i 592 A/C), nie wykazując ich udziału w rozwoju AZS [15–17, 19]. W badaniu przeprowadzonym przez Sohn i wsp. [18] stwierdzono natomiast związek między występowaniem polimorfizmów regionu promotorowego genu dla *IL-10* a fenotypem AZS u dzieci.

W ostatnio przeprowadzonym badaniu u chorych na AZS analizowano haplotypy oraz polimorfizmy pojedynczych par zasad regionu promotorowego genu dla *IL-10*, wykazując częstsze występowanie haplotypu TGAC u pacjentów ze stężeniem całkowitego IgE powyżej 1000 IU/ml. Jest to pierwsze z dostępnych badań, które analizuje związek między grupami haplotypów w regionie promotorowym genu dla *IL-10* a fenotypem pacjentów z AZS [20].

W badaniu własnym nie stwierdzono, podobnie jak w przypadku polimorfizmu -590 C/T *IL-4*, różnic w rozkładzie genotypów dla badanego polimorfizmu *IL-10* między grupą chorych a grupą kontrolną osób zdrowych. W badanym polimorfizmie *IL-10* – zarówno w grupie kontrolnej, jak i u chorych – najczęściej stwierdzano genotyp GA, najrzadziej natomiast GG.

Brak dodatknej korelacji między obecnością polimorfizmów -590 C/T *IL-4* oraz -1082 A/G *IL-10* a rozwojem AZS w badanej grupie chorych, mimo pozytywnych zależności obserwowanych w niektórych populacjach i udziału tych cytokin w rozwoju choroby, może świadczyć o odmienności genetycznej badanej populacji, a także o dużej różnorodności czynników genetycznych zaangażowanych w patogenezę AZS, zależnie od pochodzenia chorych.

*Praca finansowana z funduszy prac statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503-11-52-1 i z grantu MNiSW nr NN402434933.*

## Piśmiennictwo

1. Boguniewicz M., Leung D.Y.: Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117, 475-480.
2. Boguniewicz M., Eichenfield L.F., Hultsch T.: Current management of atopic dermatitis and interruption of the atopic march. *J Allergy Clin Dermatol* 2003, 3, 140-150.
3. Hershey G.K.K., Friedrich M.F., Esswein L.A., Thomas M.L., Chatila T.A.: The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. *N Engl J Med* 1997, 337, 1720-1725.

4. Schultz L.F.: Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol* 1993, 28, 719-723.
5. Tsunemi Y., Saeki H., Nakamura K., Sekiya T., Hirai K., Fujita H. i inni: Interleukin-12 p40 gene (IL12B) 30-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2002, 30, 161-166.
6. Leung D.Y., Bieber T.: Atopic dermatitis. *Lancet* 2003, 361, 151-160.
7. Leung D.Y., Boguniewicz M., Howell M.D., Nomura I., Hamid Q.A.: New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 2004, 113, 651-657.
8. Oppel T., Schuller E., Gunther S., Moderer M., Haberstok J., Bieber T. i inni: Phenotyping of epidermal dendritic cells allows the differentiation between extrinsic and intrinsic forms of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2000, 143, 1193-1198.
9. Dzienis K., Tryniszewska E., Kaczmarski M.: Zaburzenia równowagi immunologicznej subpopulacji limfocytów Th-1 i Th-2 oraz rola ich wybranych cytokin w atopowym zapaleniu skóry. *Post Dermatol Alergol* 2006, 23, 88-93.
10. Kawashima T., Noguchi E., Arinami T., Yamakawa-Kobayashi K., Nakagawa H., Otsuka F.: Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families. *J Med Genet* 1998, 35, 502-504.
11. Tanaka K., Sugiura H., Uehara M., Hashimoto Y., Donnelly C., Montgomery D.S.: Lack of association between atopic eczema and genetic variants of interleukin-4 receptor R alpha chain gene: heterogeneity of genetic backgrounds on immunoglobulin E production in atopic eczema patients. *Clin Exp Allergy* 2001, 31, 1522-1527.
12. Grewe M., Bruijnzeel-Koomen C.A., Schöpf E., Thepen T., Langeveld-Wildschut A.G., Ruzicka T. i inni: A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunol Today* 1998, 19, 359-361.
13. Luster A.D.: Chemokines - chemotactic molecules that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998, 338, 436-445.
14. Seneviratne S.L., Jones L., Bailey A.S., Black A.P., Ogg G.S.: Severe atopic dermatitis is associated with a reduced frequency of IL-10 producing allergen-specific CD4+ T cells. *Clin Exp Dermatol* 2006, 31, 689-694.
15. Reich K., Westphal G., Konig I.R., Mössner R., Schupp P., Gutgesell C. i inni: Cytokine gene polymorphism in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2003, 148, 1237-1241.
16. Hoffjan S., Ostrovnaia I., Nicolae D., Newman D.L., Nicolae R., Gangnon R. i inni: Genetic variation in immunoregulatory pathways and atopic phenotypes in infancy. *J Allergy Clin Immunol* 2004, 113, 511-518.
17. Chang Y.T., Lee W.R., Yu C.W., Liu H.N., Lin M.W., Huang C.H. i inni: No association of cytokine gene polymorphism in Chinese patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 2006, 31, 419-423.
18. Sohn M.H., Song J.S., Kim K.W., Kim E.S., Kim K.E., Lee J.M.: Association of interleukin-10 gene promoter polymorphism in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 2007, 150, 106-108.
19. Kiyohara C.H., Tanaka K., Miyake Y.: Genetic susceptibility to atopic dermatitis. *Allergol Int* 2008, 57, 39-56.
20. Lacy K., Archer C., Wood N., Bidwell J.: Association between a common IL10 distal promoter haplotype and IgE production in individuals with atopic dermatitis. *Int J Immunogenet* 2009, 36, 213-216.
21. Hanifin J.M., Rajka G.: Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1980, supl. 92, 44-47.
22. Rajka G., Langeland T.: Grading of the severity of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989, supl. 144, 13-14.
23. Fan L.Y., Tu X.Q., Zhu Y., Pfeiffer T., Feltens R., Stoecker W. i inni: Genetic association of cytokines polymorphisms with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis in the Chinese. *World J Gastroenterol* 2005, 11, 2768-2772.
24. López K.I., Martínez S.E., Moguel M.C., Romero L.T., Figueroa C.S., Pacheco G.V. i inni: Genetic diversity of the IL-4, IL-4 receptor and IL-13 loci in mestizos in the general population and in patients with asthma from three subpopulations in Mexico. *Int J Immunogenet* 2007, 34, 27-33.
25. Ruzicka T.: Atopic eczema between rationality and irrationality. *Arch Dermatol* 1998, 134, 1462-1469.
26. Novak N., Bieber T.: Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2003, 112, 252-262.
27. Mohrenschlager M., Darsow U., Schnopp C., Ring J.: Atopic eczema: what's new? *J EADV* 2006, 20, 503-511.
28. Vercelli D., Jabara H.H., Lauener R.P., Geha R.S.: IL-4 inhibits the synthesis of IFN-gamma and induces the synthesis of IgE in human mixed lymphocyte cultures. *J Immunol* 1990, 144, 570-573.
29. Schleimer R.P., Sterbinsky S.A., Keiser J., Bickel C.A., Klunk D.A., Tomioka K. i inni: Interleukin-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 1992, 148, 1086-1092.
30. Bochner B.S., Schleimer R.P.: The role of adhesion molecules in human eosinophil and basophil recruitment. *J Allergy Clin Immunol* 1994, 94, 427-439.
31. Hamid Q., Boguniewicz M., Leung D.Y.: Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1994, 94, 870-876.
32. Soderhall C., Bradley M., Kockum I., Wahlgren C.F., Luthman H., Nordenskjöld M.: Analysis of association and linkage for the interleukin-4 and interleukin-4 receptor b; alpha; regions in Swedish atopic dermatitis families. *Clin Exp Allergy* 2002, 32, 1199-1202.
33. He J.Q., Chan-Yeung M., Becker A.B., Dimich-Ward H., Ferguson A.C., Manfreda J. i inni: Genetic variants of the IL13 and IL4 genes and atopic diseases in at-risk children. *Genes Immun* 2003, 4, 385-389.
34. Elliott K., Fitzpatrick E., Hill D., Brown J., Adams S., Chee P. i inni: The -590C/T and -34 C/T interleukin-4 promoter polymorphisms are not associated with atopic eczema in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108, 285-287.
35. Callard R.E., Hamvas R., Chatterton C., Blanco C., Pembrey M., Jones R. i inni: An interaction between the IL-4R alpha gene infection is associated with atopic eczema in young children. *Clin Exp Allergy* 2002, 32, 990-993.

Otrzymano: 7 IV 2010 r.  
Zaakceptowano: 24 VI 2010 r.