Nina Wyrzykowska

„ODLEGŁA OCENA SKUTECZNOŚCI IMMUNOTERAPII SWOISTEJ U CHORYCH NA ATOPOWE ZAPALENIE SKÓRY”

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. med. Magdalena Czarnecka-Operacz

Katedra i Klinika Dermatologii Uniwersytetu Medycznego

im. K . Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik: Prof. dr hab. med. Zygmunt Adamski

Grant naukowy : Allergopharma GmbH & Co. KG (Niemcy)

Poznań 2015

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania

Pani Profesor Magdalenie Czarneckiej-Operacz

za inspirację naukową, wsparcie i cenne rady podczas realizacji badań.

Pracę dedykuję Agatce i Filipkowi

Spis treści

1.	**Wstęp ……**	**15**
1.1.	Informacje ogólne ……...	15
1.2.	Genetyczne uwarunkowania atopowego zapalenia skóry ……..	16
1.3.	Zaburzenia immunologiczne w atopowym zapaleniu skóry ……	18
1.3.1.	Rola immunoglobuliny E w patomechanizmie atopowego zapalenia skóry …….	19
1.3.2.	Rola limfocytów T w atopowym zapaleniu skóry ……	20
1.3.3.	Rola komórek Langerhansa w atopowym zapaleniu skóry ...……	22
1.4.	Leczenie atopowego zapalenia skóry …...……	22
1.4.1.	Leczenie miejscowe atopowego zapalenia skóry ……	23
1.4.2.	Leczenie ogólne atopowego zapalenia skóry ……..	24
1.5.	Swoista immunoterapia alergenowa ……..	26
1.5.1.	Mechanizmy działania swoistej immunoterapii alergenowej ……	28
1.5.1.1.	Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na narządową reaktywność swoistą …….	28
1.5.1.2.	Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na syntezę immunoglobulin ……	29
1.5.1.3.	Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na komórki efektorowe …….	30
1.5.1.4.	Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na limfocyty T ……..	31

1.5.1.5. Anergia limfocytów T w przebiegu swoistej immunoterapii alergenowej ……. 32

1.5.2. Zastosowanie swoistej immunoterapii alergenowej w leczeniu chorób alergicznych …….. 33

2. Założenia i cel pracy…… 35

3. Materiał i metodyka……. 36

3.1. Materiał……. 36

3.2. Metodyka…….. 38

3.2.1. Badanie przedmiotowe…… …….. 38

3.2.2. Ocena zapotrzebowania na leki oraz preparaty emolientowe w badanej grupie chorych na AZS …… 40

3.2.3. Ocena jakości życia ……. 41

3.2.4. Ocena alergologiczna pacjentów …… 43

3.2.4.1. Oznaczenie całkowitego stężenia IgE w surowicy krwi pacjentów ……..….. 43

3.2.4.2. Oznaczenie stężeń antygenowo swoistych IgE w surowicy krwi pacjentów …… 44

3.2.4.3. Oznaczenie stężenia eozynofilowego białka kationowego (ECP) w surowicy krwi pacjentów …… 45

3.2.5. Ocena immunologiczna pacjentów ……. 46

3.2.5.1. Oznaczanie stężeń cytokin o profilu Th2 …….. 46

3.2.5.2. Oznaczanie stężeń cytokin o profilu Th1 …….. 46

4. Wyniki ……..…….... 47

4.1. Wyniki porównawczej oceny stanu klinicznego pacjentów na podstawie wartości wskaźnika W-AZS …… 47

4.2. Wyniki porównawczej oceny zużycia leków i emolientów …… 48

4.3. Wyniki porównawczej oceny jakości życia na podstawie kwestionariusza DLQI ……52

4.4. Wyniki porównawczej oceny stężeń parametrów alergologicznych w surowicy krwi …… 62

4.4.1. Wyniki porównawczej oceny stężeń całkowitego IgE w surowicy krwi …… 62

4.4.2. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE w surowicy krwi …… 63

4.4.2.1. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom roztocza kurzu domowego w surowicy krwi …… 63

4.4.2.2. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom życicy trwałej w surowicy krwi …… 65

4.4.2.3. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom tymotki łąkowej w surowicy krwi …… 67

4.4.2.4. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom żyta w surowicy krwi…… 68

4.5. Wyniki porównawczej oceny stężeń wybranych cytokin w surowicy krwi 70

4.5.1. Wyniki porównawczej oceny surowiczych stężeń cytokin o profilu Th2:: IL-4, INF- γ 70

4.5.2. Wyniki porównawczej oceny stężeń cytokin o profilu Th1: sIL-2R, IL-5, IL-10 72

4.5.3. Wyniki porównawczej oceny stężeń ECP w surowicy krwi..... 75

5. Omówienie wyników i ich dyskusja.....76

5.1. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS na podstawie stanu klinicznego wyrażonego wskaźnikiem W-AZS 76

5.2. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS na podstawie oceny zużycia leków 80

5.3. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS na podstawie oceny jakości życia 83

5.4. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS z uwzględnieniem zmian zachodzących w zakresie wybranych do oceny parametrów alergologicznych 87

5.5. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS z uwzględnieniem zmian zachodzących w zakresie surowiczego wybranych cytokin 89

5.6. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS z uwzględnieniem ryzyka zachorowania na astmę oskrzelową oraz ryzyka rozwoju uczulenia w odniesieniu do innych alergenów środowiskowych …….. 93

6. Wnioski……..97

7. Streszczenie……98

8. Summary…….. 100

9. Załączniki……. 102

10. Piśmiennictwo…… 103

Spis tabel

Tab.1. Polimorfizm genów biorących udział w patomechanizmie AZS

Tab.2. Charakterystyka IgE-zależnego uczulenia w zakresie alergenów powietrznopochodnych w badanej populacji chorych na AZS.

Tab.3A. W-AZS: Ocena świądu i zaburzeń snu u chorych na atopowe zapalenie skóry

Tab.3B. W-AZS: Ocena rozległości i nasilenia stanu zapalnego skóry u chorych na atopowe zapalenie skóry

Tab.4. Kwestionariusz DLQI.

Tab.5. Surowicze stężenie cIgE : normy z uwzględnieniem wieku

Tab.6. Surowicze stężenie asIgE : normy oraz interpretacja.

Tab.7. Wartości referencyjne stężeń dla cytokin o profilu Th1 i Th2

Tab.8. Średnia punktowa wartość wskaźnika W-AZS ± SD przed rozpoczęciem leczenia, po SITA oraz aktualna.

Tab.9. Zapotrzebowanie na leki.

Tab.10. Średnia wartość DLQI ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Tab.11. Średnie surowicze stężenie cIgE ± SD przed rozpoczęciem, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia oraz wartość aktualna.

Tab. 12. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów roztocza kurzu domowego (d1, d2) przed rozpoczęciem, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia oraz wartości aktualne.

Tab.13. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów życicy trwałej (g5) przed rozpoczęciem leczenia, w trakcie, po jego zakończeniu oraz wartość aktualna.

Tab.14. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów tymotki łąkowej (g6) przed rozpoczęciem, w trakcie, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Tab.15. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów żyta zwyczajnego (g12) przed rozpoczęciem, w trakcie, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Tab.16. Średnie surowicze stężenie cytokin o profilu Th2 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartości aktualne.

Tab.17. Średnie surowicze stężenie cytokin o profilu Th1 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartości aktualne.

Tab.18. Średnie surowicze stężenie ECP przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Spis rycin

Ryc.1. Średnia wartość punktowa wskaźnika W-AZS przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz aktualna.

Ryc.2. Zapotrzebowanie na leki.

Ryc.3. Zapotrzebowanie na miejscowe preparaty gks

Ryc.4. Zapotrzebowanie na preparaty emolientowe

Ryc.5. Średnia wartość DLQI ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.6. Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 1-5 oraz 10 kwestionariusza DLQI.

Ryc.7. Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 6 i 8 kwestionariusza DLQI.

Ryc.8. Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 7 i 9 kwestionariusza DLQI.

Ryc.9. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 1 DLQI – „W jakim stopniu odczuwał/a Pan/Pani w ostatnim tygodniu swędzenie, bolesność, pieczenie lub mrowienie skóry?”

Ryc.10. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 2 DLQI - W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia był/a Pan/Pani zakłopotany/a lub zażenowany/a stanem swojej skóry?

Ryc.11. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 3 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne przeszkadzały Panu/Pani w robieniu zakupów, wykonywaniu prac domowych lub ogrodniczych?”

Ryc.12. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 4 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne wpływały na Pana/Pani ubiór?”

Ryc.13. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 5 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne wpływały na Pana/Pani życie towarzyskie lub spędzanie wolnego czasu?”

Ryc.14. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 6 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne przeszkadzały Panu/Pani w uprawianiu sportu?”

Ryc.15. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 7 DLQI – „Czy w ostatnim tygodniu dolegliwości skórne uniemożliwiały Panu/Pani pracę lub naukę? Jeśli odpowiedział Pan/Pani „Nie", to w jakim stopniu w ostatnim tygodniu dolegliwości skórne Pana/Pani utrudniały Panu/Pani pracę zawodową lub naukę?”

Ryc.16. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 8 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne stanowiły problem w kontakcie z partnerem lub partnerką, przyjaciółmi lub rodziną?”

Ryc.17. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 9 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia stan Pana/Pani skóry utrudniał współżycie seksualne?”

Ryc.18. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 10 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia leczenie dolegliwości skórnych stanowiło dla Pana/Pani problem, taki jak np. utrudnienie utrzymania porządku czy nadmierne zaabsorbowanie czasu?”

Ryc.19. Średnie surowicze stężenie cIgE przed, w trakcie SITA oraz wartość aktualna.

Ryc. 20. Średnie surowicze stężenie asIgE dla alergenów D. pteronyssinus przed, w trakcie i po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc. 21. Średnie surowicze stężenie asIgE dla alergenów D. fariane przed, w trakcie i po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.22. Średnie surowicze stężenie asIgE dla antygenów życicy trwałej (g5) przed rozpoczęciem, w trakcie, po zakończeniu leczenia oraz wartość aktualna.

Ryc. 23. Średnia surowicze stężenie asIgE dla alergenów tymotki łąkowej (g6) przed, w trakcie SITA oraz wartość aktualna.

Ryc. 24. Średnia surowicze stężenie asIgE dla alergenów żyta zwyczajnego (g12) przed, w trakcie SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.25. Średnie surowicze stężenie IL-4 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.26. Średnie surowicze stężenie IFN-γ przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.27. Średnie surowicze stężenie sIL-2R przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.28. Średnie surowicze stężenie IL-5 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.29. Średnie surowicze stężenie IL-10 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Ryc.30. Średnie surowicze stężenie ECP przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Wykaz najczęściej stosowanych skrótów

ANNS	alergiczny nieżyt nosa i spojówek
APC	komórki prezentujące antygen (ang. antigen presenting cells)
ANN	alergiczny nieżyt nosa
ANS	alergiczny nieżyt spojówek
asIgE	antygenowo swoiste immunoglobuliny E
AZS	atopowe zapalenie skóry
cIgE	całkowite immunoglobuliny E
CyA	cyklosporyna A
ECP	eozynofilowe białko kationowe (ang. eosinophilic cationic protein)
DLQI	wskaźnik wpływu dolegliwości skórnych na jakość życia (ang. dermatology life quality index)
DSS	skala dziennego nasilenia objawów (ang. daily symptom score)
EACCI	europejska akademia alergii i klinicznej Immunologii – EAACI (ang. european academy of allergy and clinical immunology)
FcεR	receptor dla fragmentu Fc przeciwciał IgE
gks	glikokortykosterydy
IgE	immunoglobulina E
IL-2R	receptor dla IL-2
IL-4	interleukina 4
IL-5	interleukina 5
IL-10	interleukina 10
IFN-γ	interferon γ
iTreg	indukowane limfocyty regulatorowe
KL	komórki Langerhansa
mik	miejscowe inhibitory kalcyneuryny
iTreg	indukowane limfocyty regulatorowe

nTreg	naturalne limfocyty regulatorowe
PRRs	receptory rozpoznawania wzoru (ang. pattern-recognition receptors)
RMS	wskaźnik zużycia leków w ANNS (ang. Rhinoconjunctivitis Medication Score)
RQLQ	ogólny kwestionariusz jakości życia w chorobie nieżytu alergicznego nosa i spojówek (ang. rhinoconjunctivitis quality of life questionnaire)
SITA	swoista immunoterapia alergenowa
SLIT	immunoterapia metodą podjęzykową (ang. sublingual immunotherapy)
SMS	ocena objawów i zużycia leków (ang. symptoms plus medication score)
STP	skórne testy punktowe
TARC	chemokina regulowana przez grasicę i aktywację (ang. thymus- and activation- regulated chemokine
TGF-β	transformujący czynnik wzrostu (ang. transforming growth factor β)
TSS	punktowy wskaźnik nasilenia objawów klinicznych (total symptom score)
W-AZS	wskaźnik oceny klinicznej chorych na AZS
WAO	światowa organizacja alergii (ang. world allergy organization)

1.0. Wstęp

1.1. Informacje ogólne

Choroby o podłożu alergicznym znane są od starożytności, lecz zarówno ich zrozumienie, jak systematyka miały miejsce zdecydowanie później. Jak wiadomo, dopiero w 1923 r. wprowadzone zostało pojęcie atopii. Termin ten pochodzi z języka greckiego, w którym „atopos" oznacza „dziwny" i został on po raz pierwszy użyty przez amerykańskich uczonych A. Coca i R. Cooke'a do określenia takich schorzeń jak astma, alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa (ANN) i atopowe zapalenie skóry (AZS). Obecnie Światowa Organizacja Alergii (ang. world allergy organization – WAO) definiuje zjawisko atopii jako osobniczą lub rodzinną predyspozycję do niekontrolowanej syntezy i uwalniania przeciwciał klasy IgE oraz co prowadzić może do rozwoju uczulenia w odniesieniu do klasycznych alergenów środowiskowych. W potwierdzeniu uczulenia IgE-zależnego w odniesieniu do wspomnianych alergenów dużą wartość praktyczna posiadają zarówno wyniki skórnych testów punktowych (STP), jaki i potwierdzenie obecności antygenowo swoistych IgE w surowicy krwi chorych (asIgE) [Bieber 2010]. Do schorzeń atopowych wg WAO zalicza się takie jednostki chorobowe jak astma, ANN i spojówek (ANS), alergie pokarmowe oraz wspomniane już AZS.

AZS jest przewlekłą dermatozą zapalną o charakterze nawrotowym, przebiegającą z nasilonym świądem, której często towarzyszą objawy innych chorób z kręgu atopii. Współistnienie różnych chorób atopowych dotyczyć może zarówno pacjenta, jak też członków jego rodziny.

W ostatnich latach obserwuje się znaczący wzrost zachorowalności na choroby o podłożu alergicznym. Według WAO występowanie AZS na świecie szacuje się obecnie na 2-5%, przy czym może ono dotyczyć nawet 10% populacji dzieci i młodych dorosłych. W populacji europejskiej współczynnik chorobowości u dzieci utrzymuje się na poziomie 12-26%. Zapadalność na AZS jest wyższe w rejonach wiejskich oraz w krajach o niższym statusie ekonomicznym. Potwierdzać to może rolę technizacji życia codziennego, czynników środowiskowych szeroko pojętego stylu życia w etiopatogenezie tej dermatozy [Bieber 2010] .

Pomimo ogromnego postępu, jaki dokonał się w ostatnich latach w dziedzinie dermatologii, alergologii, immunologii molekularnej oraz klinicznej, podstawy patogenetyczne oraz patomechanizm AZS nadal nie zostały wystarczająco wyjaśnione. Predyspozycja rodzinna do występowania chorób atopowych naturalnie zwraca uwagę na rolę czynników genetycznych. Uwarunkowania genetyczne są podstawą rozwoju zaburzeń mechanizmów regulacyjnych, co w efekcie powoduje wzmożoną produkcję i uwalnianie przeciwciał klasy IgE. Wytwarzane w nadmiarze przeciwciała skierowane są przeciwko alergenom środowiskowym, w tym zwłaszcza powietrznopochodnym, a zwłaszcza w przypadku dzieci również alergenom pokarmowym. W przypadku dorosłych chorych na AZS aż w 80% przypadków stwierdza się podwyższone poziomy cIgE w surowicy krwi, uczulenie w zakresie alergenów powietrznopochodnych i/lub pokarmowych lub współistnienie astmy i ANN [Novak 2003, Gliński 2000]. Natomiast jedynie u 20% chorych poziomy surowiczych przeciwciał cIgE pozostają w granicach normy. W etiopatogenezie AZS istotną rolę odgrywają też inne zaburzenia immunologiczne. Zróżnicowane populacje limfocytów T, komórek Langerhansa (KL), poza samą reakcją IgE-zależną są najważniejszymi elementami zaangażowanymi w ciąg zjawisk immunologicznych zachodzących w przebiegu choroby. Wśród innych czynników wpływających na patogenezę AZS wymienia się szeroki zakres czynników środowiskowych, do których zalicza się przykładowo warunki klimatyczne, zanieczyszczenie środowiska czy stres indukujący rozwój neurogennego stanu zapalnego skóry.

1.2. Genetyczne uwarunkowania atopowego zapalenia skóry

Rola czynników genetycznych w etiopatogenezie AZS została niezaprzeczalnie udowodniona. Zawsze zresztą obserwowano rodzinne występowanie choroby, i zwracano uwagę na relatywnie częste objawy AZS u bliźniąt monozygotycznych i dwuzygotycznych, tj. odpowiednio 80% i 20% [Schultz Larsen 1993]. Jeśli oboje z rodziców choruje na AZS, to ryzyko zachorowania dla ich dzieci wynosi do 75% [Bradley 2002]. Początkowe badania sugerowały autosomalny dominujący typ dziedziczenia, jednak obecnie przeważa pogląd o modelu wielogenowym

dziedziczenia [Osmola 2005]. Analizowane są głównie geny odpowiedzialne za reakcje alergiczne takie jak geny zgodności tkankowej – MHC, geny kodujące produkcję cytokin pozapalnych, chemokin, geny kodujące enzymy metabolizujące leki, receptory dla IgE oraz geny receptorów limfocytów T (TCR) [Kiyohara 2008]. Wykazano też istotny udział następujących regionów chromosowych w patogenezie AZS: p24, 3p22-24, 3p24-26, a także 3q13-q21, 3p34, 3q21, 4q22 oraz 18q11-q21. Zidentyfikowano również wiele genów kandydujących związanych z zaburzeniami struktury i funkcji bariery naskórkowej, z regulacją wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej, obejmujące również regulację szlaku sprofilowanego typowo dla IgE [Szczepakiewicz 2013]. Najważniejsze z nich wymieniono w tabl.1.

Tab.1. Polimorfizm genów biorących udział w patomechanizmie AZS

Geny związane z:	Geny:
- barierą naskórkową	SPNK5/LEKTI filagryny
- odpowiedzią immunologiczną	receptora Toll-podobny 2 receptora Toll-podobny-9 IL-4 receptora dla IL-4 IL-13 IL-31 STAT6
- receptorem dla IgE	łańcucha α i γ receptora o wysokim powinowactwie do IgE

1.3. Zaburzenia immunologiczne w atopowym zapaleniu skóry

W etiopatogenezie AZS zaburzenia dotyczą zarówno odporności wrodzonej (nieswoistej), jak i nabytej (swoistej). Genetycznie uwarunkowane zaburzenia struktury i funkcji bariery naskórkowej łącznie z uszkadzającym działaniem różnorodnych czynników dodatkowych, przykładowo takich jak enzymy proteolityczne (proteazy serynowe pochodzenia bakteryjnego – *S. aureus* oraz roztoczowego) powodują jej „nieszczelność". Warunkuje to łatwiejsze przenikanie mikroorganizmów środowiskowych przez barierę naskórkową. Poprzez swoje struktury powierzchniowe (ang. pathogen associated molecular patters - PAMPs) mikroorganizmy te łączą się następnie z genetycznie zakodowanymi receptorami PRRs (ang. pattern-recognition receptors - PRRs), na powierzchni lub w komórkach dendrytycznych, makrofagach, komórkach nabłonkowych układu oddechowego i oddechowego, będącymi składowymi w systemie wrodzonej odporności nieswoistej. Powstały w efekcie kompleks aktywuje produkcję cytokin, chemokin oraz peptydów swoiście skierowanych przeciwko drobnoustrojom.

Z kolei odporność nabytą można zdefiniować jako system złożonych reakcji immunologicznych mających na celu aktywację limfocytów T i B wzbudzanych w odpowiedzi na ekspozycję organizmu na działanie antygenów rozpoznawanych jako „obce". Obecne w skórze komórki prezentujące antygen APC (ang. antygen presenting cells) posiadają zdolność do internalizacji antygenu, oraz jego przygotowania do prezentacji w kolejnych etapach reakcji immunologicznej. Zatem objawy kliniczne w AZS wynikają z mechanizmów immunologicznych typu I i IV, i związane są ze złożonymi reakcjami IgE-zależnymi, udziałem rozmaitych sub-populacji APC, aktywacją limfocytów T, degranulacją mastocytów, aktywnością keratynocytów oraz eozynifilów [Rahman 2011, Boguniewicz 2011].

1.3.1. Rola immunoglobuliny E w patomechanizmie atopowego zapalenia skóry

W przypadku alergicznego typu AZS niezaprzeczalnie rola immunoglobuliny E (IgE) jest niezwykle istotna i dotyczy to szczególnie przypadków o ciężkim przebiegu klinicznym [Werfel 2009]. W przypadku chorób atopowych genetycznie uwarunkowana skłonność do nadprodukcji IgE swoiście skierowanych przeciwko powszechnym alergenom środowiskowym stanowi oczywiście podłoże rozwoju IgE-zależnej nadreaktywności. Jak wiadomo syntezę IgE i uwalnianie asIgE poza uwarunkowaniem genetycznym, regulują różnorodne czynniki mikrośrodowiska endogennego o charakterze cytokin, chemokin oraz aktywowanych cząsteczek przylegania międzykomórkowego, jak również sama ekspozycja na czynniki egzogenne takie jak alergeny, czy pasożyty. Do najważniejszych czynników wzmagających produkcję IgE należą IL-4 oraz IL-13 wydzielane przez komórki Th2 CD4+ jako czynnik endogenny oraz alergen jako czynnik egzogenny [Chałubiński 2009, Wu 2014, Ji-In 2012]. Sugeruje się również, że IL-31 może aktywować produkcję IgE [Hong 2012]. U chorych na AZS poza obserwowanym często IgE-zależnym uczuleniu w odniesieniu do alergenów środowiskowych wiadomo jest że IgE może być skierowane przeciwko autoalergenom, takim jak czynnik transkrypcyjny LEDGF/DSF70, autoantygen związany z atopią Hom S1-S5 oraz manganowa dysmutaza ponadtlenkowa. Sytuację taką tłumaczyć można znaczną homologią autoantygenów w stosunku do antygenów środowiskowych [Czarnecka-Operacz 2011]. W powstawaniu zmian skórnych w przebiegu AZS ma miejsce połączenie klasycznej reakcji typu I z IV wg Gella i Coombsa, na drodze IgE-zależnej prezentacji alergenów środowiskowych komórkom immunokompetentnym. Tak więc przeciwciała IgE biorą udział w drodze bezpośredniego uwalniania histaminy (mechanizm typu natychmiastowego) oraz w drodze prezentacji alergenu limfocytom T przez KL ułatwionej za pomocą IgE. Wówczas IgE wiąże się ze swoistym receptorem dla fragmentu Fc znajdującym się na KL o nadmiernej aktywności i w tej konfiguracji antygeny prezentowane są limfocytom Th2 [Czarnecka-Operacz 2011].

Biorąc pod uwagę powyższe zrozumienie udziału IgE w patogenezie AZS jedną z metod terapeutycznych jest zastosowanie przeciwciał anty-IgE (omalizumab), które blokując wiązanie immunoglobuliny z receptorami dla fragmentu Fc, uniemożliwiają w końcowym efekcie uwalnianie mediatorów prozapalnych.

Powinno to ograniczyć pojawianie się objawów klinicznych wynikających z ekspozycji na uczulające alergeny. W niektórych badaniach wykazano, że u części chorych na AZS leczonych przeciwciałami anty-IgE obserwowano poprawę stanu dermatologicznego [Werfel 2009]. Jednak doświadczenia w zakresie skuteczności terapii anty-IgE w leczeniu chorych na AZS są sprzeczne i niestety nie spełniają obecnie pokładanych nadziei w tej jak najbardziej logicznej metodzie terapeutycznej [Lacombe Barrios 2013, Hotze 2014]. Natomiast coraz więcej nadziei wiąże się z zastosowaniem antagonisty receptora dla Il-4 (dupilumab) w leczeniu różnych odmian AZS, a co ważne również tych o bardzo ciężkim przebiegu klinicznym [Beck 2014].

1.3.2. Rola limfocytów T w atopowym zapaleniu skóry

Mechanizmy komórkowe układu odpornościowego związane z limfocytami T pełnią oczywiście niezmiernie ważną rolę w patomechanizmie AZS. U pacjentów ze względu na przewlekłą stymulację antygenową i zwiększoną aktywację limfocytów T stwierdza się większą ich ekspresję w krwi obwodowej. Antygeny środowiskowe wnikające przez uszkodzoną barierę ochronną naskórka są rozpoznawane przez bytujące w naskórku KL. Te po ich przetworzeniu, jak już wcześniej wspomniano prezentują je limfocytom T powodując tym samym ich aktywację. Limfocyty T przekształcają się następnie w komórki pamięci, do których zalicza się kilka subpopulacji, w tym dwie główne, a mianowicie: Th1 i Th2. Obie subpopulacje różni m.in. profil uwalnianych cytokin, co warunkuje ich ostateczny wpływ na charakter odpowiedzi immunologicznej. Limfocyty Th1 uwalniają m.in. IL-1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-23, INF- γ, TNFα i β oraz stymulują odpowiedź typu komórkowego. Z kolei limfocyty Th2 posiadają zdolność uwalniania IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, biorąc udział w odpowiedzi typu humoralnego [Czarnecka-Operacz 2011]. Zarówno limfocyty Th1 jak i Th2 uwalniają IL-3 i GM-CSF oraz wywierają na siebie wzajemnie hamujący wpływ. W populacji osób zdrowych limfocyty T mają tendencję do przekształcania się w kierunku komórek linii Th1, natomiast w przypadku pacjentów obciążonych atopią, w tym chorych na AZS, przeważa dominacja subpopulacji Th2. Pobudzone limfocyty

Th2 warunkują powstawanie nacieku komórkowego w skórze złożonego głównie z makrofagów i eozynofilów. Przyjmuje się, że zwłaszcza makrofagi w kolejnym etapie rozwoju stanu zapalnego skóry uwalniając IL-12, zmieniają profil reakcji w kierunku Th1 [Lee 2012, Brandt 2011].

W zależności od fazy rozwoju zapalnych zmian skórnych w przebiegu AZS obserwuje się przewagę limfocytów Th1 lub Th2. Faza ostra choroby charakteryzuje się przewagą limfocytów Th2, co wiąże się z obfitym naciekiem limfocytarnym w skórze i z nadmiernym uwalnianiem takich cytokin jak IL-4, IL-5 i IL-13. Natomiast faza przewlekła cechuje się naciekiem złożonym głównie z eozynofilów i makrofagów oraz syntezą i uwalnianiem cytokin typowych dla profilu Th1: IL-2, IL-12, IFN-γ [Dzienis 2006, Brandt 2011, Harskamp 2013].

Obok wspomnianych subpopulacji limfocytarnych typu Th1 i Th2 wiele uwagi poświęca się innym, takim jak Th17. Uwalniana przez nie IL-17 korelować może z nasileniem stanu zapalnego skóry i podobnie jak w przypadku innych chorób atopowych, może różnicować chorych na AZS w zakresie ich fenotypu klinicznego [Werfel 2009]. Komórki Th17 są jedną z populacji komórek nacieku zapalnego w AZS, szczególnie w ostrych zmianach skórnych ekspresja IL-17 jest zwiększona. Po kontaktowej ekspozycji na alergen komórki Th17 migrują do skóry i zwiększają syntezę wielu cytokin (IL-6, G-CSF, GM-CSF, IL-1β, TGF-β, TNF-α), chemokin (IL-8) i prostaglandyn (PGE_2) przez rozmaite populacje komórkowe, takie przykładowo jak fibroblasty, keratynocyty, makrofagi czy komórki śródbłonka. Wspomniana powyżej IL-17 zwiększa także ekspresję przeciwdrobnoustrojowych peptydów takich jak β-defensyna, co z kolei wspomaga niszczenie wnikających patogenów. W późniejszej fazie rozwoju stanu zapalnego skóry obserwuje się dominację komórek CD4+ oraz CD8+, które produkują IL-22, natomiast liczba komórek CD17 wyraźnie spada [Czarnecka-Operacz 2011, Brandt 2011, Jutel 2012].

1.3.3. Rola komórek Langerhansa w atopowym zapaleniu skóry

KL są komórkami dendrytycznymi powstającymi w szpiku kostnym z linii mieloidalnej. Należą do grupy komórek APC oraz stanowią istotną część układu immunologicznego skóry [Chomiczewska 2009]. W zdrowej populacji KL stanowią 3-8% wszystkich komórek naskórka, przy czym największe ich skupisko obserwuje się w warstwie podstawnej i kolczystej naskórka. U osób z chorobami alergicznymi odsetek ten wzrasta. Funkcjonowanie KL uwarunkowane jest licznymi cząsteczkami znajdującymi się na ich powierzchni: cząsteczkom MHC (głównie HLA-DR), receptorom dla fragmentu Fc przeciwciał - FcεR (FcεRI, FcεRII) cząsteczkom adhezyjnym i kostymulującym, receptorom dla cytokin i chemokin. Kardynalne znaczenie posiadają FcεRI charakteryzujące się wysokim powinowactwem do IgE, których ekspresja istotnie wzrasta u chorych na AZS. Jak wiadomo połączenie FcεR z asIgE ułatwia 100-1000-krotnie wiązanie i prezentację alergenu we wczesnej fazie rozwoju zapalenia [Novak 2004]. Innym receptorem obecnym na powierzchni KL jest CD23, będący receptorem o niskim powinowactwie dla IgE. Pośredniczy on w reakcjach cytotoksycznych zależnych od przeciwciał, reguluje syntezę IgE oraz bierze udział w prezentacji limfocytom B kompleksu IgE z limfocytem B połączonym z antygenem [Polasik 2010, Rahman 2011].

1.4. Leczenie atopowego zapalenia skóry

AZS ze względu na swoją wieloczynnikową patogenezę stwarza wiele problemów terapeutycznych. Leczenie powinno być w pełni zindywidualizowane i „zaprojektowane” z uwzględnieniem zarówno działań profilaktycznych, leczenia miejscowego i systemowego. Decyzja dotyczącego odpowiedniego doboru metod terapeutycznych podejmowana być powinna w zależności od charakterystyki klinicznej oraz alergologicznej pacjenta.

1.4.1. Leczenie miejscowe atopowego zapalenia skóry

W związku ze wspomnianymi wcześniej strukturalnymi i funkcjonalnymi zaburzeniami w obrębie bariery naskórkowej, jednym z podstawowych objawów klinicznych w AZS jest bardzo nasilona suchość skóry. Zatem w celu poprawy nawilżenia i natłuszczenia skóry skuteczne okazuje się regularne stosowanie preparatów emolientowych, które dodatkowo mogą ograniczać u pacjentów niezwykle uporczywe uczucie świądu skóry, a w przypadku niektórych emolientów może również nawet ograniczać konieczność stosowania miejscowych leków przeciwzapalnych. Uważa się również, że wczesna terapia emolientowa wprowadzona w okresie noworodkowym z rodzinnym obciążeniem atopią, może zmniejszyć ryzyko rozwoju objawów AZS w kolejnych latach życia pacjenta [Weber 2015]. W miejscowym leczeniu przeciwzapalnym stosowane są dwie podstawowe grupy leków, a mianowicie glikokortykosteroidy (gks) oraz miejscowe inhibitory kalcyneuryny (mik), czyli pimekrolimus oraz takrolimus. Gks stosowane są już od dawna i nadal są wręcz nieodzownym elementem terapeutycznym, jednak ze względu na szeroki panel możliwych działań niepożądanych wymagają szczególnej ostrożności. Zwłaszcza dotyczy to preparatów o wysokim potencjale działania, okolic szczególnie narażonych na rozwój objawów ubocznych oraz konieczności terapii przewlekłej.

Z kolei mik mamy do dyspozycji od relatywnie krótkiego okresu czasu (w porównaniu z gks) i nadal prowadzone są intensywne badania w zakresie bezpieczeństwa ich przewlekłego stosowania. Ich działanie immunomodulujące opiera się na hamowaniu wczesnej fazy aktywacji limfocytów T, ograniczeniu syntezy wielu cytokin prozapalnych związanych z odpowiedzią immunologiczną typu komórkowego oraz ograniczaniem populacji komórek IDEC (ang. inflammatory dendritic epidermal cells), będących jedną z kluczowych populacji komórek zaangażowanych w rozwoju stanu zapalnego skóry w przebiegu AZS [Czarnecka-Operacz 2012, Bieber 2010]. Miejscowe inhibitory kalcyneuryny są uważane za bezpieczne i dobrze tolerowane leki zarówno u dzieci i dorosłych chorych na AZS , a co ważne pozbawione są typowych dla gks działań niepożądanych.

W przypadku występowania wtórnego nadkażenia bakteryjnego zaleca się stosowanie antybiotykoterapii miejscowej, natomiast w nadkażeniu grzybiczym lub drożdżakowym, stosowanie dobrana terapia miejscowymi lekami przeciwgrzybiczymi i przeciwdrożdżakowymi.

1.4.2. Leczenie ogólne atopowego zapalenia skóry

Leczenie ogólne chorych na AZS opiera się głównie na zastosowaniu preparatów przeciwhistaminowych, przeciwzapalnych, przeciwbakteryjnych, przeciwświądowych oraz uspakajających. Z leków przeciwhistaminowych najczęściej stosuje się grupę odwrotnych agonistów receptora H1. Według niektórych badaczy stosowanie preparatów przeciwhistaminowych pozbawionych działania sedatywnego ma znikomy wpływ bądź nawet pozbawiony jest wpływu na przebieg AZS [Bieber 2010]. Jednak w świetle najnowszych badań okazuje się, że sytuacja jest diametralnie inna. Wiadomo, że histamina wykazuje istotny wpływ na przebieg AZS poprzez dwa receptory: H1R i H4R. Poprzez H1R histamina upośledza różnicowanie się keratynocytów, reguluje funkcjonowanie włókien nerwowych dzięki aktywacji czynnika wzrostu nerwów, jak również bezpośrednio aktywuje neurony czuciowe poprzez H1R oraz H4R. Natomiast poprzez H4R histamina aktywuje komórki efektorowe odpowiedzi alergicznej, takie jak mastocyty, bazofile, eozynofile oraz wzmaga produkcję chemokiny regulowanej przez grasicę i aktywację – TARC (ang. thymus- and activation- regulated chemokine), co odzwierciedla ciężki przebieg choroby. Co ciekawe, wykazano, że antagoniści H1R oraz H4R powodują także zmniejszanie poziomu IL-31, cytokiny związanej z barierą naskórkową oraz świądem u chorych na AZS. Histamina hamuje też naskórkowe różnicowanie się keratynocytów poprzez zmniejszenie ekspresji keratyny 1, keratyny 10, filagryny i lorikryny aż o 80-95% w efekcie upośledzając funkcję bariery naskórkowej. Stąd logiczne jest, że łączne podawanie antagonistów H1R i H4R hamuje zarówno świąd jak i rozwój przewlekłego alergicznego stanu zapalnego, a efekt leczenia

porównywany jest z efektem leczeniem prednizolonem [Ohsawa 2014, Gschwandtner 2013].

Układowa glikokortykosteroidoterapia ma ograniczone zastosowanie i dotyczy jedynie przypadków o ciężkim przebiegu, kiedy to można wdrożyć krótkie leczenie średnimi dawkami gks. Obecnie ogólne zastosowanie gks zostało praktycznie w dużym stopniu zastąpione przez cyklosporynę A (CsA), której skuteczność została bezsprzecznie potwierdzona. Oczywiście terapia ogólna CsA wymaga monitorowania wszystkich potencjalnych działań niepożądanych leku takich przykładowo jak nadciśnienie krwi, czy zaburzenia funkcji nerek i wątroby. Do innych leków immunosupresyjnych mających rzadsze już zastosowanie w terapii AZS zalicza się azatioprynę oraz interferon-γ. Inną alternatywą terapeutyczną jest stosowanie immunoglobulin dożylnych, mykofenolanu mofetilu, metotreksatu oraz wspomnianych już wcześniej leków biologicznych.

W niektórych przypadkach AZS swoje miejsce znalazła także fototerapia. Zastosowanie promieniowania UVB (280-320 nm), wąskopasmowego UVB (311-313 nm), UVA (320-400 nm), UVA1 (340-400 nm), psoralenu/UVA (PUVA) oraz balneo-PUVA zostało poddane zostały licznym analizom klinicznym. Stwierdzono większą skuteczność promieniowania UVA1 (340-400 nm) w zaostrzeniach AZS, natomiast w przewlekłych postaciach choroby wąskopasmowe UVB charakteryzuje się największą skutecznością kliniczną [Bieber 2010].

Natomiast szczególne miejsce w leczeniu alergicznego typu AZS zajmuje swoista immunoterapia alergenowa (SITA).

1.5. Swoista immunoterapia alergenowa

SITA jest powszechnie stosowaną i akceptowaną metodą leczenia wybranych, chorób alergicznych. Polega na podawaniu wzrastających dawek ekstraktów alergenowych pacjentom na niego uczulonych celem zmniejszenia objawów związanych z późniejszą ekspozycją na uczulający alergen. Stanowi ona jak dotychczas jedyną przyczynową metodę terapeutyczną dla alergicznych chorób IgE-zależnych. Jej historia sięga początku ubiegłego wieku, kiedy to Leonhard Noon i John Freeman opublikowali swoją pionierską pracę na temat SITA, opisując kliniczną poprawę u chorych na alergiczny nieżyt nosa po profilaktycznym wszczepieniu alergenów pyłków traw [Alvarez-Cuesta 2006, Ring 2011].

W praktyce klinicznej stosowane są szczepionki alergenowe standaryzowane o ściśle określonej zawartości alergenu. Aktualnie najczęściej stosuje się szczepionki w formie depot, w których alergen związany jest z nośnikiem – wodorotlenkiem glinu lub tyrozyna. Na rynku dostępne są również preparaty zawierające tzw. alergoidy, czyli alergeny zmodyfikowane chemicznie, które charakteryzują się lepszą skutecznością i bezpieczeństwem. W przypadku klasycznej formy SITA terapia polega na podskórnym podawaniu wzrastających dawek szczepionek co 1-2 tygodnie, a następnie dawek podtrzymujących co 4-8 tygodni. Istnieją również inne drogi podawania szczepionek – podjęzykowa – tzw. SLIT (ang. sublingual immunotherapy), doustna czy też donosowa. Najnowsze doniesienia sugerują dwukrotnie wyższą skuteczność terapeutyczną szczepionek podawanych metodą podskórną w porównaniu do tych podawanych metodą podjęzykową Najbardziej interesujące wydaje się być dowęzłowe podawanie szczepionek alergenowych. W zakresie alergii powietrznopochodnej w odniesieniu do alergenów pyłków traw immunoterapia dowęzłowa metoda ta osiąga porównywalną skuteczność terapeutyczną do osiągniętej wskutek immunoterapii podskórnej, natomiast wymaga rzadszych iniekcji oraz mniejszej całkowitej dawki alergenu [Akdis 2014]. Efekt tolerancji uczulającego alergenu uzyskany po 3 latach SITA w przypadku immunoterapii dowęzłowej osiąga się w niezmiernie krótkim czasie 8 tygodni. Poza tym podkreśla się łatwość, praktyczną bezbolesność i bezpieczeństwo tej innowacyjnej metody [Senti 2008]. Zastosowanie szczepionek rekombinowanych lub

ich mieszanek stanowi kolejny postęp w chorobach alergicznych, który doprowadził do indywidualizacji szczepionek i immunoterapii swoistej. Rekombinowane alergeny zawarte w szczepionkach są białkami syntetyzowanymi przez obce organizmy, do których wprowadzono określoną informację genetyczną. Są cząsteczkami, które dokładnie naśladują właściwości naturalnych alergenów lub też stanowią zmodyfikowany wariant alergenu, który zmniejsza reaktywność IgE lub posiada zmniejszoną aktywność alergiczną [Makatsori 2013, Valenta 2011]. Ich zastosowanie pozwala na eliminację białek niealergenowych, redukcję ryzyka wprowadzenia alergenów i materiału infekcyjnego do szczepionki, zapewnia wiarygodną standaryzację szczepionek, a przede wszystkim zwiększa bezpieczeństwo i ogranicza koszty terapii [Rutkowski 2007].

W przypadku nadwrażliwości na jady owadów błonkoskrzydłych zastosowanie znalazły przyspieszone metody SITA typu cluster czy ultra rush. Uważa się, że SITA nie powinna trwać krócej niż trzy lata. Podkreśla się, że całoroczne podawanie szczepionek alergenowych z okresową redukcją dawki podczas naturalnej ekspozycji jest skuteczniejsze niż podawanie szczepionek przedsezonowo, tj. przed rozpoczęciem okresu pylenia [Gawlik 1997].

SITA prowadzona prawidłowo przez osobę z doświadczeniem jest bezpieczną metodą leczenia. Do najczęstszych objawów niepożądanych należą niegroźne reakcje miejscowe takie jak obrzęk i zaczerwienienie w miejscu wykonanej iniekcji. W trakcie SITA istnieje także ryzyko wystąpienia reakcji uogólnionych, zaostrzenia choroby podstawowej, wystąpienia pokrzywki, obrzęku naczynioruchowego, duszności aż po wstrząs anafilaktyczny włącznie.

1.5.1. Mechanizmy działania swoistej immunoterapii alergenowej

Leczenie prowadzone za pomocą szczepionek alergenowych pozwala modyfikować zaburzoną odpowiedź immunologiczną przywracając jej prawidłowe funkcjonowanie. Postęp w takich dziedzinach jak genetyka, immunologia, biotechnologia i biologia molekularna przybliżył mechanizm działania oraz otworzył nowe kierunki rozwoju SITA [Kowal 2009]. Dokładny mechanizm działania SITA jest złożony i nadal nie do końca poznany. Wiadomo, że skuteczna SITA polega na przywróceniu dominacji odpowiedzi Th1 w stosunku do odpowiedzi Th2, co prowadzi do zmniejszenia poziomów IL-4 i IL-5 oraz do zmniejszenia syntezy IFN-γ. SITA odpowiada za produkcję komórek T regulatorowych, które uwalniają przeciwzapalne cytokiny takie jak IL-10 czy TGF-β. W efekcie obserwuje się spadek przeciwciał IgE, wzrost blokujących przeciwciał IgG i IgA, które to hamują uwalnianie cytokin prozapalnych przez mastocyty, eozynofile i komórki T. Także SITA prowadzi do zmniejszone napływu mastocytów, eozynofilów i bazofilów do skóry, nosa, oka i do błony śluzowej oskrzeli po ekspozycji na alergeny. Badania naukowe wyjaśniające dokładne mechanizmy SITA są ciągle prowadzane, by wyjaśnić jak ta forma terapii wywiera korzystny wpływ na choroby alergiczne. Szczegółowy opis mechanizmu działania SITA został opisany poniżej.

1.5.1.1. Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na narządową reaktywność swoistą

Klinicznie skuteczna SITA warunkuje zwiększenie tolerancji na naturalną ekspozycję na swoiste alergeny powietrznopochodne. Odczyny skórne ulegają osłabieniu, zmniejsza się skurcz oskrzeli oraz osłabieniu ulegają objawy ANN oraz ANS po przeprowadzeniu alergenowej prowokacji [Jutel 2001].

1.5.1.2. Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na syntezę immunoglobulin

Jak już wspomniano, charakterystyczną cechą atopii jest obecność swoistych immunoglobulin IgE w surowicy krwi oraz w tkankach. W wyniku zastosowania SITA poziom IgE początkowo wzrasta, by w wielomiesięcznej lub wieloletniej perspektywie wykazywać tendencję do obniżania się. Obniżenie poziomu IgE nie jest jednak kluczowym mechanizmem działania SITA. Wynika to z faktu, iż spadek IgE obserwuje się późno i często wyrażony jest jedynie w nieznacznym stopniu. Wcześniej opisywano słabą korelacją pomiędzy surowiczymi stężeniami IgE a nasileniem objawów klinicznych w przebiegu SITA [Jutel 2001], obecnie nie uznaje się tej korelacji. W trakcie leczenia szczepionkami alergenowymi następuje również wzrost surowiczego stężenia przeciwciał IgG (głównie subklasy IgG4). IgG4 mają charakter przeciwzapalny, hamują tworzenie się kompleksów immunologicznych – po związaniu z alergenem uniemożliwiają połączenie się alergenu z przeciwciałami IgE, co zapobiega aktywacji komórek tucznych i bazofilów. Interesującym zjawiskiem jest zjawisko określane jako FAB (ang. facilitated allergen binding), podczas którego przeciwciała IgG (w tym IgG4) wiążą kompleksy alergen-IgE za pomocą receptorów FcεRII na swojej powierzchni uniemożliwiając limfocytom B prezentację alergenu limfocytom T. Co ciekawe, udowodniono, że poziom IgG4 nie koreluje z ograniczeniem objawów alergii, a tym samym nie jest markerem skuteczności prowadzonego leczenia. W trakcie SITA wytwarzane są również przeciwciała IgA, szczególnie IgA2, które typowe są dla błon śluzowych i odpowiadają za neutralizację w sezonie wdychanych alergenów w tkankach docelowych [Lasek 2013, Calamita 2013, Akdis 2010].

1.5.1.3. Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na komórki efektorowe

SITA wywiera bardzo szeroki wpływ na komórki efektorowe reakcji alergicznej, redukuje napływ komórek zapalnych do miejsca reakcji, hamuje aktywację komórek efektorowych oraz zmniejsza uwalnianie mediatorów reakcji zapalnej. Zastosowanie szczepionek alergenowych prowadzi do desensytyzacji komórek tucznych i bazofilów, czyli do systematycznego i kontrolowanego wyrzutu przez nie subklinicznych ilości mediatorów zapalnych i ich degranulacji (zmniejszenie uwalniania histaminy oraz IL-4 i IL-13). W efekcie stają się one niewrażliwe na „naturalną" ekspozycję na alergen, co przede wszystkim wykorzystywane jest w wariancie „rush" u chorych uczulonych na jady owadów błonkoskrzydłych. Efekt supresyjny komórek efektorowych wynika także z działania bezpośredniego i pośredniego (IL-10, TGF-beta) wspomnianych już limfocytów regulatorowych. TGF-beta w sposób bezpośredni hamuje komórki tuczne, natomiast IL-10 (Tr1) oddziałuje supresyjnie na limfocyty Th2, zmniejszając ich zdolność do wydzielania cytokin IL-4, IL-5 i IL-13. Spadek poziomu IL-5 ogranicza nacieki eozynofilów, a proalergiczne właściwości komórek tucznych maleją wskutek obniżenia poziomu przeciwciał IgE. Osłabienie funkcji mastocytów wiąże się nie tylko ze spadkiem wydzielanych przez nie mediatorów, ale również ze spadkiem TNF-alfa i IL-4, co skutkuje wtórnym zmniejszeniem stanu zapalnego w tkankach [Lasek 2013, Soyer 2013]

Wpływ SITA na komórki dendrytyczne również został poznany. U pacjentów prezentujących objawy alergii komórki dendrytyczne charakteryzują się zaburzoną produkcją IFN-α. Podczas fazy podtrzymującej SITA poziom IFN-α wzrasta, co sugeruje wpływ SITA na omawiane komórki [Soyer 2011]. SITA prowadzi także do obniżenia poziom eozynofilowego białka kationowego – ECP (ang. eosinophilic cationic protein) poprzez obniżenie czynników chemotaktycznych dla eozynofilów i neutrofilów. SITA hamuje również uwalnianie mediatorów reakcji anafilaktycznej takich jak histamina czy sufidoleukotrieny. Na wskutek leczenia szczepionkami alergenowymi zaobserwowano również spadek poziomu endoteliny 1, która jest prozapalnym białkiem bronchokonstrykcyjnym. W efekcie u dzieci chorych na astmę oskrzelową po dwóch latach SITA obserwowano spadek tego białka i poprawę stanu klinicznego [Jutel 2001].

1.5.1.4. Wpływ swoistej immunoterapii alergenowej na limfocyty T

Podawany za pomocą szczepionek alergen, wychwytywany jest przez APC, takie przykładowo jak KL, które migrują do regionalnego węzła chłonnego i tam indukują odpowiedź immunologiczną. W związku z tym, że podczas indukcji alergenowo swoistych limfocytów T i B nie jest przekazywany sygnał zagrożenia („danger signal"), to pobudzane są komórki regulatorowe indukujące tolerancję na antygen. Ciągle powstające limfocyty regulatorowe podczas kontynuacji SITA przedostają się do tkanek obwodowych, gdzie wywierają korzystny wpływ na mechanizmy odpowiedzi immunologicznej typu I oraz alergenowo swoiste limfocyty Th2, hamują wytwarzanie cytokin proalergicznych i przyczyniają się do przywrócenia dominacji limfocytów Th1 nad Th2. Stąd uważa się, że najważniejszym etapem działania SITA jest właśnie indukcja alergenowo swoistych limfocytów regulatorowych. Funkcje regulatorowe przypisuje się zarówno limfocytom B jak i T, z czego limfocyty T odgrywają znaczącą rolę i określa się je zbiorczo jako limfocyty T regulatorowe (Treg), w skład których wchodzą naturalne limfocyty regulatorowe (nTreg) oraz indukowane limfocyty regulatorowe (iTreg). nTreg są limfocytami CD4+, cechują się wysoką ekspresją na swojej powierzchni cząsteczki CD25+ (sIL-2Ralfa), GITR (glucocorticoid-induced-TNF-receptor-related-protein), CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4), a ich markerem jest cząsteczka FOXP3 [Calamita 2013, Lasek 2013]. nTreg hamują odpowiedź układu immunologicznego bez wcześniejszego pobudzenia poprzez bezpośredni efekt supresyjny co, co istotne, rozprzestrzenia się na otaczające komórki. Ich najważniejsza funkcja sprowadza się do ochrony przed odpowiedzią immunologiczną na autoantygeny, a tym samym chronią przed rozwojem chorób autoimmunologicznych [Ring 2006, Calamita 2013]. Z kolei iTreg wywierają efekt supresyjny za pomocą wytwarzanych cytokin – hamują limfocyty B i T (efektorowe i pamięci), komórki NK oraz komórki prezentujące antygen. Wśród iTreg rozróżniamy dwie subpopulacje: limfocyty Th3 i Tr1. Limfocyty Th3 cechują się wydzielaniem transformującego czynniku wzrostu (ang. transforming Growth Factor beta - TGF-β), pełnią ważną ochronną rolę w układzie pokarmowym. Natomiast limfocyty Tr1, których rozwój pobudzany jest głównie przez IL-27, wytwarzają duże ilości tolerogennej IL-10. Istnieje wiele dowodów, że to właśnie Tr1 zaangażowane są w obronę przed nadmiernymi reakcjami w odniesieniu do

alergenów, w tym powietrznopochodnych. W związku z tym powszechnie uważa się, że przede wszystkim indukcja Tr1 (także limfocytów T CD4+CD25+FOXP3+) jest odpowiedzialna za wytworzenie tolerancji na alergen, czyli za sukces terapeutyczny immunoterapii swoistej [Lasek 2013]. Dowiedziono, że już po kilkutygodniowym okresie prowadzenia SITA limfocyty Tr1 hamują odpowiedź limfocytów T efektorowych, głównie Th2, prowadząc do przewagi odpowiedzi typu Th1 nad Th2. Wraz z upływem czasu ekspresja komórek Tr1 i wydzielanej przez nie IL-10 obniża się, co jest istotne w związku z odległą oceną skuteczności SITA. Wynikać to może z redystrybucji komórek Tr1 lub zaangażowaniem w mechanizmy supresyjne innych komórek regulatorowych, np. limfocytów T CD4+CD25+FOXP3+ [Lasek 2013, Fujita 2012].

Zmniejszenie dominacji limfocytów Th2 wynika także ze zmniejszenia na ich powierzchni cząsteczek TIM -1 (ang. T cell immunoglobulin and mucin domain molecule - 1) i TIM-4 (ang. T cell immunoglobulin and mucin domain molecule - 4), za pomocą pobudzane są przez komórki dendrytyczne. Zaobserwowano, że SITA prowadzi do zmniejszenia ekspresji tych cząsteczek właśnie na powierzchni limfocytów Th2 [Lasek 2013, Soyer 2011].

1.5.1.5. Anergia limfocytów T w przebiegu swoistej immunoterapii alergenowej

Jednym z mechanizmów SITA jest obniżenie zdolności proliferacyjnych limfocytów T w odpowiedzi na kontakt z alergenem. Wynika to z działania IL-10 wydzielanej przez limfocyty Treg. Wykazano, że ludzkie limofocyty T pomocnicze po ekspozycji na wysokie stężenia alergenów tracą zdolność do reakcji na kolejny kontakt z alergenem (restymulacja). W efekcie nie dochodzi do proliferacji i przekazania sygnału limofcytom B . Zaobserwowano, że anergiczne limfocyty T mogą być reaktywowane pod wpływem cytokin. I tak w przypadku IL-2 i IL-15 limfocyty wydzielają cytokiny o profilu Th1 oraz stymulują produkcję IgG4. Natomiast w przypadku IL-4 dochodzi do wydzielania cytokin typu Th2 oraz syntezy przeciwciał IgE. Wysokie dawki antygenów mogą prowadzić także do apoptozy limfocytów Th2

[Maggi 2010]. W efekcie dochodzi do wytworzenia immunotolerancji, która w przypadku ANN utrzymuje się przez wiele lat.

1.5.2. Zastosowanie swoistej immunoterapii alergenowej w leczeniu chorób alergicznych

SITA jest powszechnie stosowana w terapii chorych z ANN i ANS uczulonych na alergeny powietrznopochodne, chorych uczulonych na jad owadów błonkoskrzydłych o podłożu IgE-zależnym, manifestującym się ciężkimi bądź bardzo ciężkimi reakcjami ogólnymi oraz w astmie oskrzelowej (z wyłączeniem bardzo ciężkich postaci) [Wöhrl 2011].

W literaturze znajduje się wiele doniesień potwierdzających skuteczność SITA. Jej skuteczność kliniczna, szczególnie w chorobach układu oddechowego, została potwierdzona licznymi badaniami z podwójnie ślepą próbą kontrolowanymi placebo oraz randomizowanymi. Doniesienia dotyczące skuteczności SITA w przebiegu AZS nie są tak liczne, jednak uzyskane wyniki są bardzo obiecujące [Czarnecka-Operacz 2006, Silny 2006, Zheng 2011, Shi 2010, Pajno 2007]. Zostały one podsumowane przez Compalatiego w 2012 [Compalati 2012].

Wśród najważniejszych badań wymienia się pracę Czarneckiej-Operacz i wsp. z 2006r., którzy przeprowadzili 4-letnie badanie, obejmujące 37 osobową grupę chorych z alergicznym typem AZS, których poddano SITA lub leczeni byli metodą konwencjonalną (preparaty antyhistaminowe, przeciwświądowe, przeciwzapalne, miejscowe preparaty steroidowe, emolienty). Wykazano wyższą efektywność SITA w porównaniu do metody konwencjonalnej w różnych grupach wiekowych (najlepsze rezultaty u najmłodszych chorych) oraz w odniesieniu do trzech typów alergii powietrznopochodnej (roztocza kurzu domowego; alergeny pyłku traw i zbóż; alergeny pyłku traw, zbóż i bylicy pospolitej). W przypadku chorych z alergią powietrznopochodną w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego uzyskano istotną poprawę kliniczną już po 12 miesiącach, natomiast w przypadku

alergenów pyłków traw, zbóż i bylicy pospolitej po 48 miesiącach. Przeprowadzone leczenie szczepionkami alergenowymi było bezpieczne i dobrze tolerowane przez chorych [Czarnecka-Operacz 2006].

Ta sama grupa naukowców przeprowadziła również bardzo istotne badanie z podwójnie ślepą próbą kontrolowaną placebo w grupie 20 chorych z alergicznym typem AZS uczulonych na alergeny roztocza kurzu domowego lub alergeny pyłków traw. To trwające 12 miesięcy badanie jednoznacznie wykazało istotną poprawę kliniczną w grupie chorych leczonych aktywnie. Udowodniono, że SITA stanowi skuteczną metodę leczenia chorych na AZS z dobrze udokumentowaną IgE-zależną alergią powietrznopochodną [Silny 2006].

Część pacjentów biorących udział w powyższych badaniach stanowi grupę chorych, u których oceniono odległą oceną skuteczności SITA w niniejszej pracy.

Odległa ocena skuteczności SITA jak dotąd pozostaje niewyjaśniona, stąd temat rozprawy ma charakter pionierski.

2. Założenia i cel pracy

SITA pozostaje nadal jedynym, istniejącym, przyczynowym leczeniem IgE-zależnych chorób alergicznych. W literaturze światowej istnieje wiele publikacji potwierdzających skuteczność SITA przede wszystkim w astmie, ANN, ANS oraz w przypadku alergii na jady owadów błonkoskrzydłych. Najliczniejsze badania poświęcone odległej ocenie SITA opisywane są w przypadku chorych na ANN, a wyniki leczenia są bardzo zachęcające. Natomiast w przypadku AZS doniesienia na temat zastosowania SITA są obiecujące, choć wciąż jest ich stosunkowo niewiele. Z kolei nieliczność prac na ten temat prawdopodobnie wiąże się z brakiem doniesień literaturowych dotyczących odległej oceny skuteczności SITA w tej grupie chorych.

Na przeprowadzenie projektu badawczego uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu na mocy uchwały 52/12 z dnia 05.01.2012r. (zał.1).

Głównymi celami pracy były:

1. Odległa kliniczna ocena skuteczności SITA prowadzonej w wybranej grupie chorych na AZS przy zastosowaniu szczepionek alergenowych Novo Helisen Depot (Nexter-Allergopharma) po upływie 2-12 lat okresu obserwacyjnego.
2. Aktualna ocena stanu klinicznego chorych na AZS wyrażonego wskaźnikiem W-AZS oraz porównanie i analiza wyników z wynikami uzyskanymi w tej samej grupie chorych przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu SITA.
3. Aktualna ocena zużycia leków i preparatów emolientowych u chorych na AZS oraz porównanie i analiza wyników z wynikami uzyskanymi w tej samej grupie chorych przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu SITA.
4. Aktualna ocena jakości życia chorych na AZS na podstawie kwestionariusza DLQI oraz porównanie i analiza wyników z wynikami uzyskanymi w tej samej grupie chorych przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu SITA.
5. Oznaczenie wybranych parametrów immunologicznych w surowicy krwi chorych na AZS (cIgE, asIgE, IL-4, IL-5, IL-10, sIL-2Rα, INF- γ, ECP) oraz porównanie i analiza wyników z wynikami uzyskanymi w tej samej grupie chorych przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu SITA.

3. Materiał i metodyka

3.1. Materiał

Badaniu poddano grupę 15 pacjentów chorych na alergiczny typ AZS. Należy zaznaczyć, że wspomniana liczebność grupy wynika z niestandardowego charakteru leczenia, jakim jest SITA w przebiegu AZS, konieczności posiadania specjalistycznych oznaczeń parametrów laboratoryjnych z przeszłości, długiego czasu od zakończenia leczenia i wynikających z tego problemów logistycznych oraz prawdopodobnie aktualnego dobrego stanu klinicznego chorych, którzy nie są zainteresowani kontaktem z lekarzem dermatologiem. Ponadto, w zasadzie wszystkie badania dotyczące odległej oceny skuteczności SITA przeprowadzone w innych chorobach atopowych opierają się na podobnych liczebnie populacjach pacjentów.

U wszystkich chorych potwierdzono klinicznie istotne IgE-zależne uczulenie w odniesieniu do alergenów powietrznopochodnych (tab.2) udokumentowane dodatnimi wynikami STP) oraz wynikami oznaczeń asIgE w surowicy krwi. Znaczenie kliniczne uczulenia potwierdzono na podstawie informacji o zaostrzeniach stanu klinicznego po ekspozycji na uczulające alergeny. U tych pacjentów po przeprowadzeniu szczegółowej analizy indywidualnych przypadków podjęto SITA w warunkach podwójnie ślepej próby kontrolowanej placebo. Badanie prowadzono w latach 1995-2000 w Ośrodku Diagnostyki Chorób Alergicznych Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Wiek chorych mieścił się w granicach 21 – 62 r.ż. (średnia: 36,5), z czego 80% stanowiły kobiety (n-12), a 20% mężczyźni (n-3). Chorzy rozpoczynali SITA w wieku 5-46 r.ż (średnia: 20,4) i kontynuowali leczenie przez okres 5 lat, z wyjątkiem jednego pacjenta leczonego dwoma typami szczepionek alergenowych, u którego leczenie trwało 10 lat. Przez wdrożeniem leczenia chorzy prezentowali średni bądź ciężki przebieg AZS i nie udało się kontrolować przebiegu klinicznego choroby przy zastosowaniu klasycznych metod terapii AZS. Stanowiło to podstawę do rozpoczęcia SITA przy zastosowaniu odpowiednio dobranego składu szczepionek alergenowych. W leczeniu zastosowano szczepionki alergenowe, Novo-Helisen® Depot, Nexter-Allergopharma, Katowice, Polska; Reinbek, Niemcy), w odniesieniu do których nasze doświadczenia kliniczne

były już wieloletnie. Klasyczna, czyli podskórna SITA, prowadzona była w systemie całorocznym i zgodnie z wytycznymi Europejskiej Akademii Alergii i Klinicznej Immunologii – EAACI (ang. European Academy of Allergy and Clinical Immunology) w zakresie tej metody leczenia. Szczepionkę alergenową podawano głęboko podskórnie w obrębie zewnętrznej powierzchni ramienia, około 4 cm powyżej łokcia (okolica słabo unaczyniona, łatwość założenia opaski uciskowej hamującej wnikanie alergenu w przypadku powikłań). Pierwszą dawką zgodnie z generalnie przyjętymi zaleceniami było 0,05 ml roztworu stężenia 50 TE/ml. Następnie, co 7-14 dni stosowane były iniekcje z wzrastającą zawartością alergenu, aż do momentu osiągnięcia dawki podtrzymującej wynoszącej 1ml stężenia 5000 TE/ml. Po osiągnięciu maksymalnej dawki, była ona powtarzana co 4 tygodnie przez okres 4 lat. Globalny okres prowadzenia SITA wynosił 5 lat.

Tab.2. Charakterystyka IgE-zależnego uczulenia w zakresie alergenów powietrznopochodnych w badanej populacji chorych na AZS.

IgE-zależne uczulenie w odniesieniu do:	Liczba chorych
Alergenów roztocza kurzu domowego Dermatophagoides pteronyssinus i Dermatophagoides farinae	7
Alergenów pyłków traw i zbóż (kupówka pospolita, wiechlina łąkowa, kłosówka wełnista, kostrzewa łąkowa, życica trwała, tymotka łąkowa, żyto zwyczajne, pszenica, owies)	7
Alergenów roztocza kurzu domowego Dermatophagoides pteronyssinus i Dermatophagoides farinae oraz alergeny pyłków traw i zbóż	1

3.2. Metodyka

Ocenę skuteczności SITA u chorych na AZS oparto na ocenie stanu klinicznego chorych za pomocą wskaźnika W-AZS, na wynikach kwestionariusza jakości życia DLQI (ang. Dermatology Life Quality Index – Dermatologiczny wskaźnik jakości życia) oraz na podstawie parametrów alergologicznych i immunologicznych. Porównano wyniki uzyskane przed rozpoczęciem, w trakcie trwania, po zakończeniu SITA oraz aktualnie, tj. po upływie 2-12 lat od zakończenia terapii.

3.2.1. Badanie przedmiotowe

Ocena stanu klinicznego pacjentów została przeprowadzona na podstawie wskaźnika W-AZS, który stanowi punktowy wskaźnik rejestrujący objawy podmiotowe i przedmiotowe u chorych na AZS. Został on opracowany przez Silnego i wsp. [Silny 1999]. W-AZS składa się z dwóch podstawowych części. Pierwsza część ocenia świąd oraz zaburzenia snu i w zależności od nasilenia objawów chory może uzyskać od 0 do 34 punktów (tab.3A). Natomiast druga część ocenia rozległość i nasilenie stanu zapalnego skóry, których wynik mieści się w skali 0-178 punktów (tab.3B).

W-AZS jest bardzo precyzyjną metodą ceny stanu klinicznego pacjentów chorych na AZS, który umożliwia praktycznie jako jedyny z dostępnych narzędzi zróżnicowanie pomiędzy ostrym i przewlekłym stanem zapalnym skóry. Jest szczególnie przydatny w porównawczych badaniach populacyjnych prowadzonych w szerokim zakresie interwałów czasowych [Gliński 2004].

Tab.3A. W-AZS: Ocena świądu i zaburzeń snu u chorych na atopowe zapalenie skóry

A. Ocena świądu	Skala punktów
I. Brak świądu.....	0 .....
II. Świąd obecny:	
Rozległość:	
1. Świąd o pojedynczej lub o kilku lokalizacjach	2 .....
2. Świąd skóry całego ciała	6 .....
Częstotliwość:	
1. Napady świądu krótkotrwałe – do 30 minut	2 .....
2. Napady świądu długotrwałe	4 .....
3. Stały świąd	8 .....
Nasilenie:	
1. Świąd nie wymagający drapania	2 .....
2. Świąd wymagający drapania	4 .....
3. Niepokój i rozdrażnienie wywołane świądem	8 .....
B. Ocena zaburzeń snu:	
1. Brak zaburzeń snu	0 .....
2. Trudności w zasypianiu	3 .....
3. Przebudzenia w nocy wywołane świądem ...	6 .....
4. Bezsenność	12 .....
	Razem (A + B) = ...

Tab. 3B. W-AZS: Ocena rozległości i nasilenia stanu zapalnego skóry u chorych na atopowe zapalenie skóry

Rozległość zmian skórnych A		Nasilenie stanu zapalnego skóry B				A x B/10
		rumień obrzęk	pęcherzyki nadżerki	strupy złuszczenie	lichenizacja przebarwienia	
Twarz z szyją	( ) x 1 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Głowa owłosiona z karkiem	( ) x 1 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Przednia powierzchnia tułowia	( ) x 4 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Tylna powierzchnia tułowia	( ) x 4 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Prawe ramię	( ) x 1 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Prawe przedramię z ręką	( ) x 1 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Lewe ramię	( ) x 1 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Lewe przedramię z ręką	( ) x 1 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Prawe udo	( ) x 2 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Prawe podudzie ze stopą	( ) x 2 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Lewe udo	( ) x 2 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Lewe podudzie ze stopą	( ) x 2 =	(x 3) +	(x 3) +	(x 2) +	( ) =	
Skala ocen: 0 – brak zmian 1 = 1–10% zajętej powierzchni 2 = 11–30% zajętej powierzchni 3 = 31–100% zajętej powierzchni		Skala ocen: 0 = brak zmian 1 = słabo nasilone 2 = średnio nasilone 3 = znacznie nasilone				Razem

3.2.2. Ocena zapotrzebowania na leki oraz preparaty emolientowe w badanej grupie chorych na AZS

Ocena zużycia leków opierała się na miesięcznym zapotrzebowaniu chorego na leki przeciwhistaminowe (wyrażone w ilości tabletek) oraz glikokortykosteroidy miejscowe (wyrażone w gramach). Ocenie poddano również częstotliwość dziennej aplikacji emolientów. Ze względu na retrospektywną i zarazem trudną dla pacjentów ocenę zapotrzebowania, różnorodności stosowanych leków i emolientów na przestrzeni lat, podawane przez chorych w niektórych przypadkach wyniki mogły być określone w orientacyjnym zakresie.

3.2.3. Ocena jakości życia

Jakość życia badanych chorych analizowana była za pomocą wskaźnika wpływu dolegliwości skórnych na jakość życia – DLQI (ang. Dermatology Life Quality Index - DLQI). DLQI jest najbardziej praktycznym i jednym z najprostszych narzędzi służących do oceny jakości życia, stworzonym w 1994r. przez naukowców Finlay i Khan z Uniwersytetu w Cardiff. Ten prosty kwestionariusz został przetłumaczony na 21 języków i użyty w ponad 1000 publikacjach. DLQI składa się z 10 pytań dotyczących objawów, samopoczucia, codziennych czynności, wolnego czasu, pracy, szkoły, relacji z bliskimi oraz leczenia. Za każde pytanie uzyskuje się od 0 do 3 punktów, co sumując daje wynik od 0 (brak wpływu choroby na jakość życia) do 30 (maksymalny wpływ choroby na jakość życia) punktów [Finlay 1994]. Kwestionariusz DLQI przedstawia tab.4.

Tab.4. Kwestionariusz DLQI.

1.	W jakim stopniu odczuwał/a Pan/Pani w ostatnim tygodniu **swędzenie**, **bolesność**, **pieczenie** lub **mrowienie** skóry?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	
2.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia był/a Pan/Pani **zakłopotany/a** lub **zażenowany/a** stanem swojej skóry?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	
3.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne przeszkadzały Panu/Pani w **robieniu zakupów**, **wykonywaniu prac domowych** lub **ogrodniczych?**	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐

4.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne wpływały na Pana/Pani **ubiór**?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐
5.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne wpływały na Pana/Pani **życie towarzyskie** lub **spędzanie wolnego czasu**?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐
6.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne przeszkadzały Panu/Pani w **uprawianiu sportu**?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐
7.	Czy w ostatnim tygodniu dolegliwości skórne uniemożliwiały Panu/Pani **pracę** lub **naukę**?	Tak Nie	☐ ☐	Nie dotyczy ☐
	Jeśli odpowiedział Pan/Pani „Nie", to w jakim stopniu w ostatnim tygodniu dolegliwości skórne Pana/Pani utrudniały Panu/Pani **pracę zawodową** lub **naukę**?	Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐	
8.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne stanowiły problem w kontakcie z **partnerem** lub **partnerką, przyjaciółmi** lub **rodziną**?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐
9.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia stan Pana/Pani skóry utrudniał **współżycie seksualne**?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐

10.	W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia **leczenie** dolegliwości skórnych stanowiło dla Pana/Pani problem, taki jak np. utrudnienie utrzymania porządku czy nadmierne zaabsorbowanie czasu?	Bardzo mocno Bardzo Trochę Wcale	☐ ☐ ☐ ☐	Nie dotyczy ☐

3.2.4. Ocena alergologiczna pacjentów

W badanej grupie chorych przeprowadzono następujące badania alergologiczne w celu szczegółowej oceny charakterystyki oraz stopnia uczulenia w odniesieniu do powszechnych alergenów środowiskowych.

3.2.4.1. Oznaczenie całkowitego stężenia IgE w surowicy krwi pacjentów

Oznaczenie całkowitego stężenia IgE (cIgE) w surowicy krwi pacjentów przed rozpoczęciem leczenia szczepionkami alergenowymi, po jego zakończeniu oraz aktualnie przeprowadzono metodą fluoroimmunoenzymatyczną przy zastosowaniu systemu CAP FEIA firmy Pharmacia – LKB (Szwecja). Wyniki wyrażono w kU/l. Uzyskane wyniki odnoszono do norm podanych przez producenta (tab.5)

Tab.5. Surowicze stężenie cIgE : normy z uwzględnieniem wieku

Wiek	Całkowite stężenie IgE (kU/l)
6 tydzień życia	2,3
3 miesiąc życia	4,1
6 miesiąc życia	7,3
9 miesiąc życia	10
12 miesiąc życia	13
2 rok życia	23
3 rok życia	32
4 rok życia	40
5 rok życia	48
6 rok życia	56
7 rok życia	63
8 rok życia	71
9 rok życia	78
10 rok życia	85
Powyżej 10 roku życia	100

3.2.4.2. Oznaczenie stężeń antygenowo swoistych IgE w surowicy krwi pacjentów

Oznaczenie stężeń antygenowo swoistych IgE (asIgE) w surowicy krwi pacjentów przed rozpoczęciem SITA, po zakończeniu terapii oraz aktualnie przeprowadzono metodą immunofluoroenzymatyczną przy zastosowaniu systemu CAP FEIA firmy Pharmacia – LKB (Szwecja). Wyniki wyrażono w kU/l. Oznaczono poziomy stężeń asIgE skierowanych przeciwko następującym alergenom:

d1 - Dermatophagoides pteronyssinus

d2 – Dermatophagoides farinae

g5 – życica trwała

g6 – tymotka łąkowa

g12 – żyto zwyczajne

Uzyskane wyniki odnoszono do norm podanych przez producenta (tab.6).

Tab. 6. Surowicze stężenie asIgE : normy oraz interpretacja.

KLASA	**STĘŻENIE (kU/l)**	**STĘŻENIE SPECYFICZNYCH IgE**
0	< 0.35	Nieobecne lub nieoznaczalne
1	0.35 – 0.69	Niskie
2	0.70 – 3.49	Średnie
3	3.50 – 17.49	Wysokie
4	17.50 – 49.99	Bardzo wysokie
5	50.00 – 100.00	Bardzo wysokie
6	> 100.00	Bardzo wysokie

3.2.4.3. Oznaczenie stężenia eozynofilowego białka kationowego (ECP) w surowicy krwi pacjentów

Oznaczenia stężenia eozynofilowego białka kationowego (ECP) w surowicy krwi pacjentów przeprowadzono metodą fluoroimmunoenzymatyczną FEIA CAP System Firmy Pharmacia – LKB (Szwecja). Aktualnie powyższe badania powtórzono metodą immunoenzymatyczną ELISA firmy Wuhan EIAab Science Co.,LTD (Chiny). Poziom ECP wyrażono w µg/l. Norma surowiczego stężenia ECP to 2,3 – 15 µg/l.

3.2.5. Ocena immunologiczna pacjentów

3.2.5.1. Oznaczanie stężeń cytokin o profilu Th2

Oznaczanie stężeń cytokin o profilu Th2: IL-4, IL-5, IL-10 przed i po zakończeniu SITA oraz aktualnie przeprowadzono przy zastosowaniu metody kolorymetrycznej ELISA – Quantikine (quantitive 2-step colorimetric sandwich ELISA) firmy R&D systems (USA). Wyniki wyrażono w pg/ml. Wartości referencyjne dla poszczególnych cytokin przedstawia tabl.7.

3.2.5.2. Oznaczanie stężeń cytokin o profilu Th1

Oznaczanie stężeń cytokin o profilu Th1: INF-γ, sIL-2R zarówno przed i po SITA, jak i aktualnie przeprowadzono przy zastosowaniu metody kolorymetrycznej ELISA – Quantikine (quantitive 2-step colorimetric sandwich ELISA) firmy R&D systems (USA). Wyniki wyrażono w pg/ml. Wartości referencyjne dla poszczególnych cytokin przedstawia tabl.7.

Tab. 7. Wartości referencyjne stężeń dla cytokin o profilu Th1 i Th2

Analizowana cytokina	Wartość referencyjna stężenia (pg/ml)
IL-4	poniżej 31,2
IL-5	poniżej 7,8
IL-10	poniżej 7,8
INF-γ	poniżej 15,6
sIL-2R	średnio 1346

4. Wyniki

4.1. Wyniki porównawczej oceny stanu klinicznego pacjentów na podstawie wartości wskaźnika W-AZS

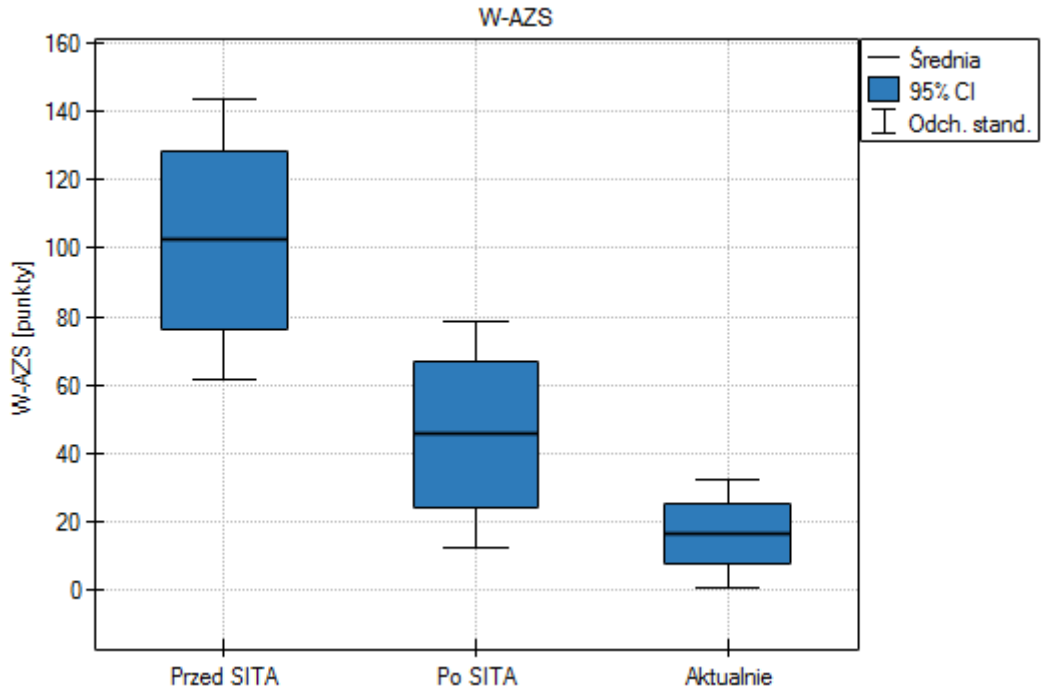
Ocenę stanu klinicznego chorych przeprowadzano przy zastosowaniu wskaźnika W-AZS przed rozpoczęciem SITA, w trakcie (po 12 miesiącach prowadzenia leczenia) oraz aktualnie. Uzyskane wyniki wyrażone w punktach, przedstawia tab.8. i ryc.1. Następnie porównano aktualny stan kliniczny pacjentów z wynikiem oceny przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu SITA. Do statystycznej analizy zastosowano nieparametryczny test Friedmana z testem wielokrotnych porównań Dunna. Porównując otrzymane wyniki wykazano istotną statystycznie różnicę zarówno pomiędzy aktualnym wskaźnikiem W-AZS a przed SITA ($p<0,001$), jak i stanem aktualnym a po SITA ($p<0,05$).

Tab.8. Średnia punktowa wartość wskaźnika W-AZS ± SD przed rozpoczęciem leczenia, po SITA oraz aktualna.

	W-AZS (pkt.) ± SD
Przed SITA	102,6 ± 41,0
Po SITA	45,6 ± 33,3
Aktualnie	16,6 ± 15,8

* W-AZS	- aktualnie a przed SITA:	$p<0,001$
	- aktualnie a po SITA:	$p<0,05$

Ryc.1. Średnia wartość punktowa wskaźnika W-AZS przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz aktualna.



4.2. Wyniki porównawczej oceny zużycia leków i emolientów

Zapotrzebowanie na leki oceniono w badanej populacji przed, po zakończeniu leczenia szczepionkami alergenowymi oraz aktualnie. Analizie poddano zapotrzebowanie na leki przeciwhistaminowe oraz miejscowe gks. Dodatkowo poddano ocenie częstotliwość aplikacji preparatów emolientowych konieczna do utrzymania prawidłowego stopnia nawilżenia i natłuszczenia skóry chorych na AZS. Wyniki przedstawiono w tab.9. i ryc. 2-4.

Tab.9. Zapotrzebowanie na leki.

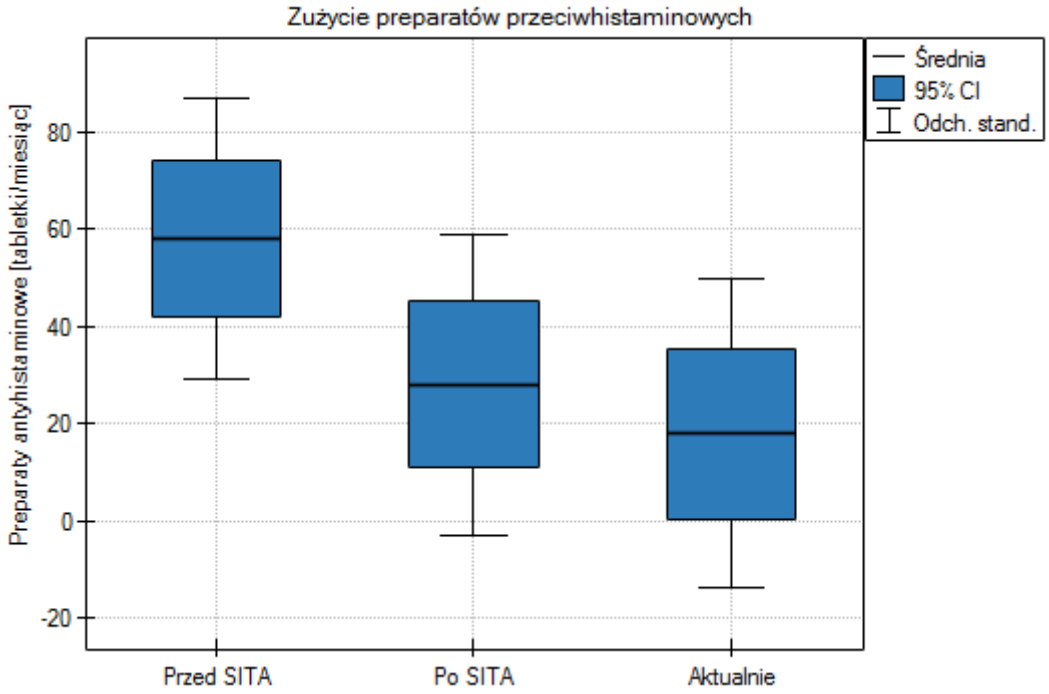
	Przed SITA	Po SITA	Aktualnie
Leki przeciwhistaminowe [tabletki/miesiąc] ± SD	58,0 ± 28,8	28,0 ± 31,0	18,0 ± 31,7
Glikokortykosteroidy miejscowe [g/miesiąc] ± SD	94,7 ± 38,1	32,3 ± 35,9	24,3 ± 30,1
Emolienty [aplikacje/dzień] ± SD	2,5 ± 0,9	1,7 ± 0,8	1,6 ± 0,7

* Leki przeciwhistaminowe	- aktualnie a przed SITA:	$p<0,01$
	- aktualnie a po SITA:	$p>0,05$
* Glikokortykosteroidy miejscowe	- aktualnie a przed SITA:	$p<0,001$
	- aktualnie a po SITA:	$p>0,05$
* Emolienty	- aktualnie a przed SITA:	$p<0,05$
	- aktualnie a po SITA:	$p>0,05$

Analizując zużycie leków przeciwhistaminowych wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy zapotrzebowaniem aktualnym a przed SITA ($p<0,01$), natomiast porównanie zapotrzebowania aktualnego z zapotrzebowaniem po SITA nie dało istotnej statystycznej różnicy ($p>0,05$) (ryc.2).

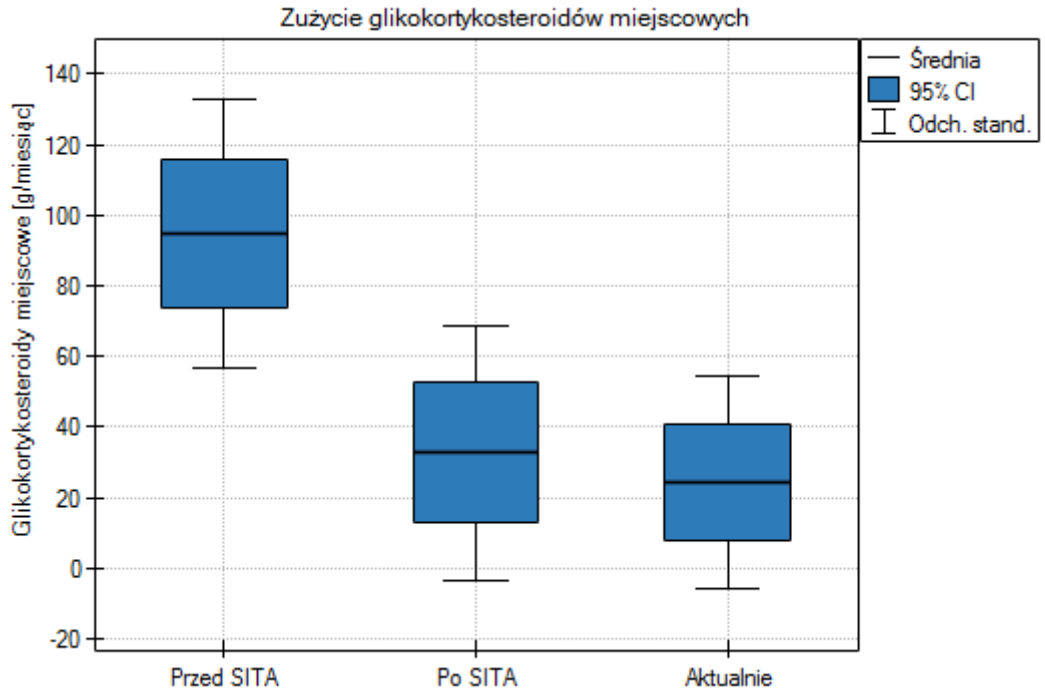
Ryc.2. Zapotrzebowanie na leki przeciwhistaminowe

.



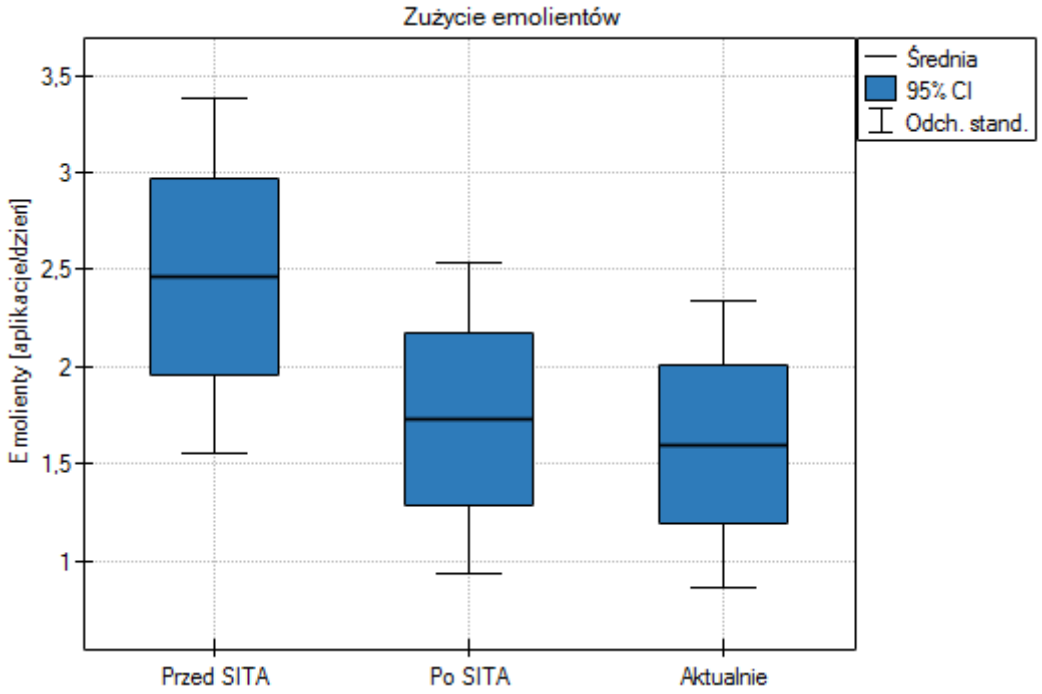
Porównując zapotrzebowanie na miejscowe preparaty gks, wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy aktualną aplikowaną ilością a tą przed rozpoczęciem SITA ($p<0.001$), natomiast różnica pomiędzy wynikami aktualnymi a po zakończeniu SITA nie była istotna statystycznie ($p>0,05$) (ryc.3).

Ryc.3. Zapotrzebowanie na miejscowe preparaty gks



Częstość aplikacji emolientów różniła się statystycznie pomiędzy stanem obecnym a okresem przed rozpoczeciem SITA ($p<0,05$), natomiast porównanie wartości aktualnych z wynikami uzyskanymi po zakończeniu SITA nie wykazało różnicy statystycznie istotnej ($p>0,05$) (ryc.4).

Ryc.4. Zapotrzebowanie na preparaty emolientowe



4.3. Wyniki porównawczej oceny jakości życia na podstawie kwestionariusza DLQI

Jakość życia badanych chorych oceniana była przy zastosowaniu kwestionariusza DLQI odnoszącego się do okresu przed rozpoczęciem SITA, po jej zakończeniu oraz stanu aktualnego. Analizie poddano zarówno wynik sumaryczny DLQI, jak również każde pytanie kwestionariusza DLQI z osobna. Analizę statystyczną danych wykonano przy pomocy testu nieparametrycznego Friedmana z testem wielokrotnych porównań Dunna.

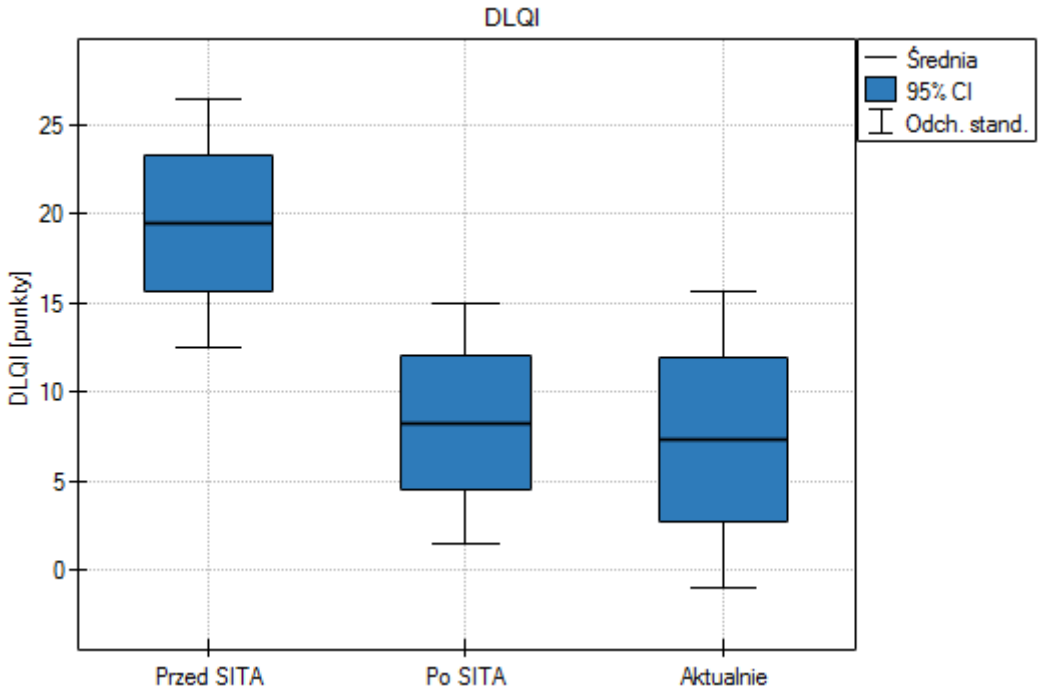
Średnie wartości uzyskanych wyników DLQI umieszczono w tab.10. Porównując otrzymane wyniki wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy aktualną wartością DLQI a tą przed SITA ($p<0,01$). W przypadku porównania aktualnego wyniku DLQI z otrzymanym po zakończeniu SITA nie wykazano istotnej statystycznie różnicy ($p>0,05$) (ryc.5).

Tab.10. Średnia wartość DLQI ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Punkt czasowy	DLQI (pkt) ± SD
Przed SITA	19,5 ± 7,0
Po SITA	8,3 ± 6,7
Aktualnie	7,3 ± 8,3

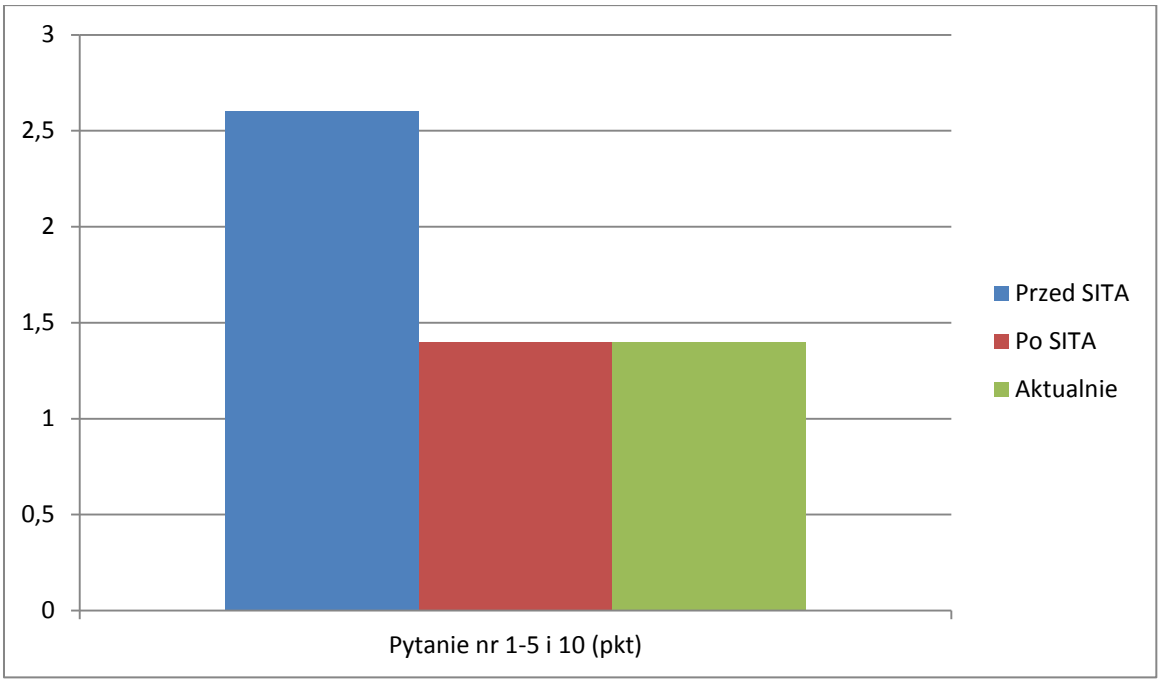
* DLQI	- aktualnie a przed SITA:	p<0,01
	- aktualnie a po SITA:	p>0,05

Ryc.5. Średnia wartość DLQI ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



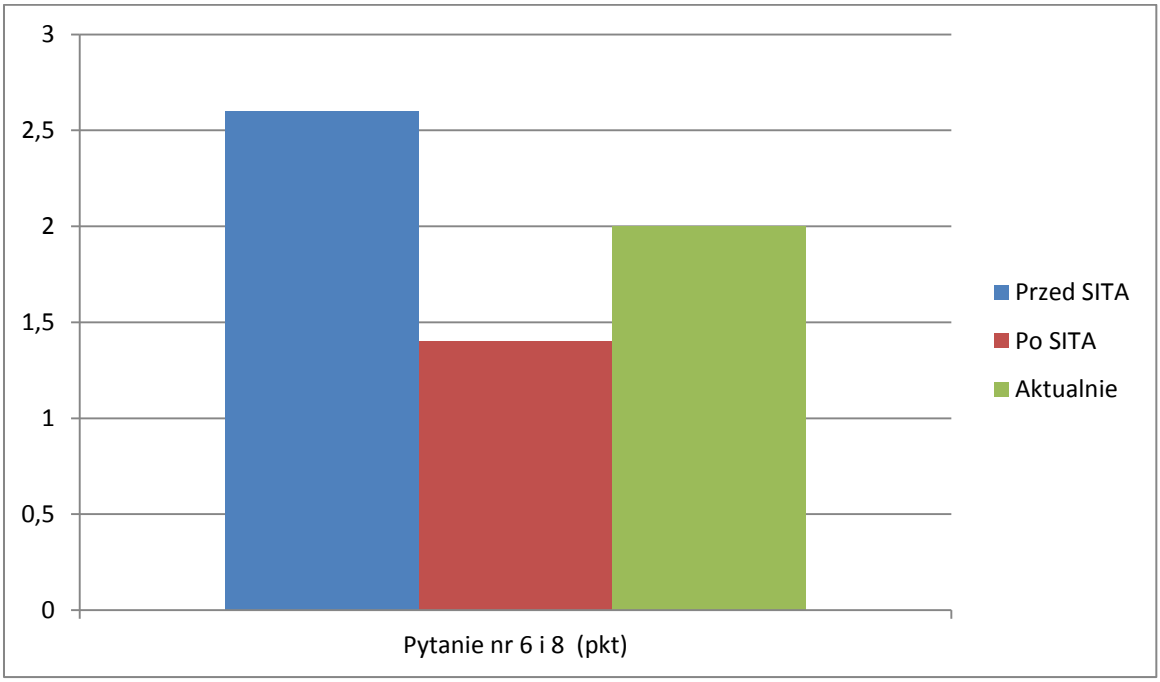
Analizę statystyczną jakości życia na podstawie odpowiedzi na poszczególne pytania kwestionariusza celem łatwiejszej interpretacji przedstawiono za pomocą schematów (ryc.6-8). Poniżej umieszczono również wykresy obrazujące częstość rozkładu odpowiedzi na poszczególne pytania (ryc.9. – ryc.18.)

Ryc.6. Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 1-5 oraz 10 kwestionariusza DLQI.



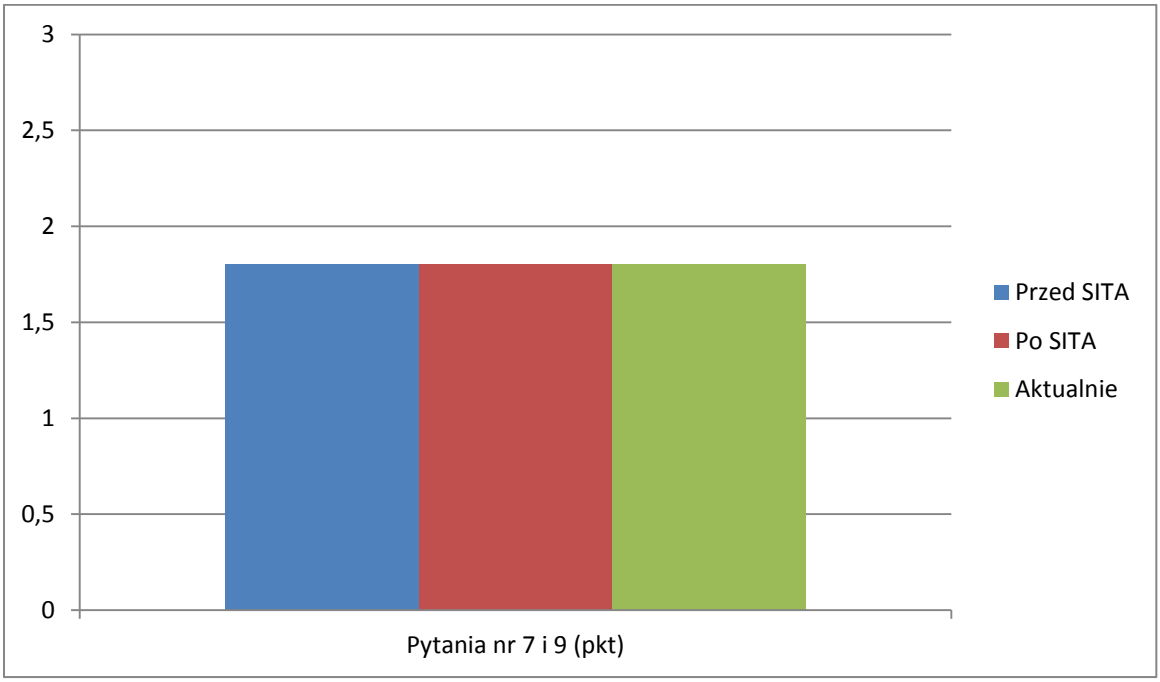
Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania 1-5 oraz 10 (dotyczące dolegliwości skórnych, poczucia zakłopotania stanem swojej skóry, codziennych czynności, wpływu stanu dermatologicznego na ubiór, życie towarzyskie i spędzanie wolnego czasu, niedogodności związanych z leczeniem) wykazała istotną różnicę pomiędzy wartościami aktualnymi oraz tymi przed rozpoczęciem leczenia ($p<0,01$). Wyniki aktualne utrzymywały się na stałym poziomie od momentu zakończenia leczenia ($p>0,05$).

Ryc.7. Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 6 i 8 kwestionariusza DLQI.



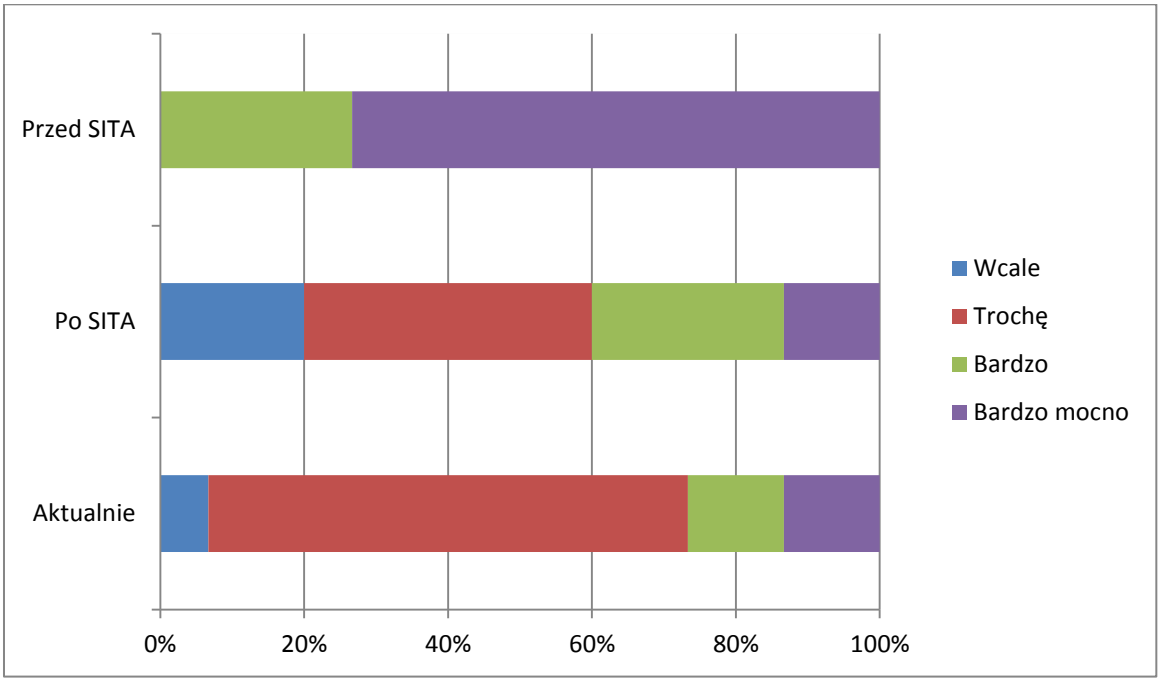
Na podstawie analizy statystycznej odpowiedzi na pytania nr 6 i 8 (dotyczących uprawiania sportu oraz kontaktu z najbliższymi) nie stwierdza się istotnych statystycznie różnic pomiędzy odpowiedziami aktualnymi porównywanymi zarówno z tymi sprzed SITA jak i tymi uzyskanymi po zakończeniu leczenia ($p>0,05$). Aczkolwiek różnica pomiędzy wartością przed rozpoczęciem SITA a po zakończeniu SITA pozostaje istotna statystycznie ($p<0,01$).

Ryc.8. Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 7 i 9 kwestionariusza DLQI.

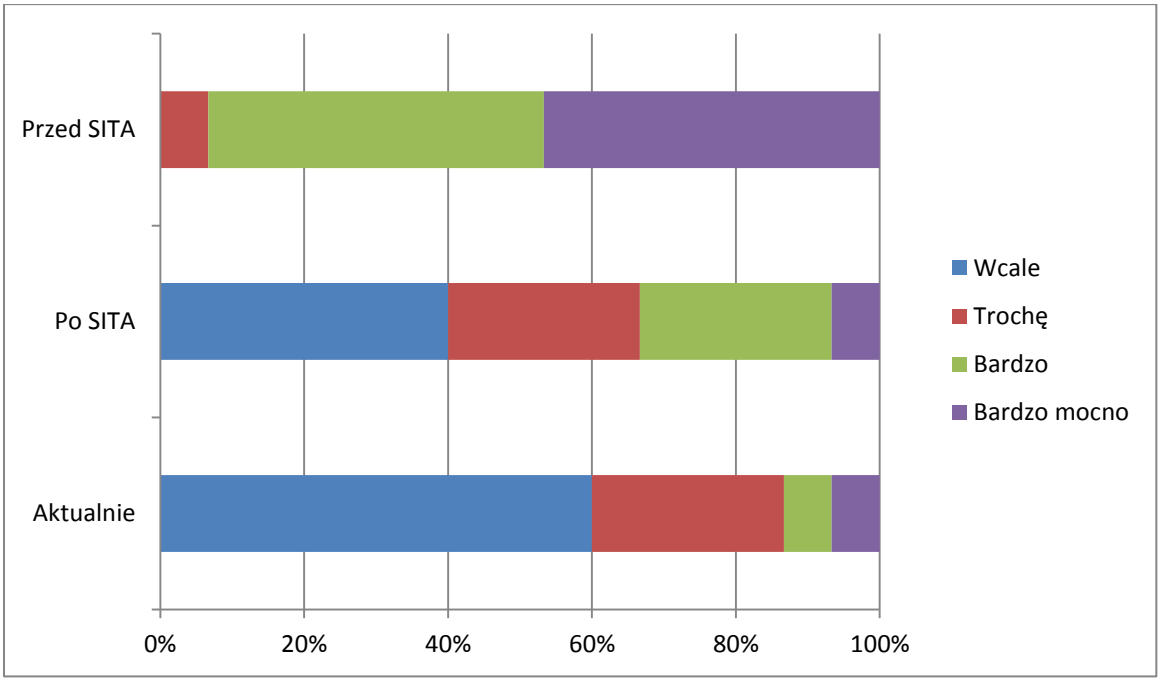


Analiza statystyczna odpowiedzi na pytania nr 7 i 9 (dotyczących pracy i nauki oraz życia seksualnego) nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy trzema badanymi okresami: przed SITA, po zakończeniu SITA oraz stanem aktualnym ($p>0,05$).

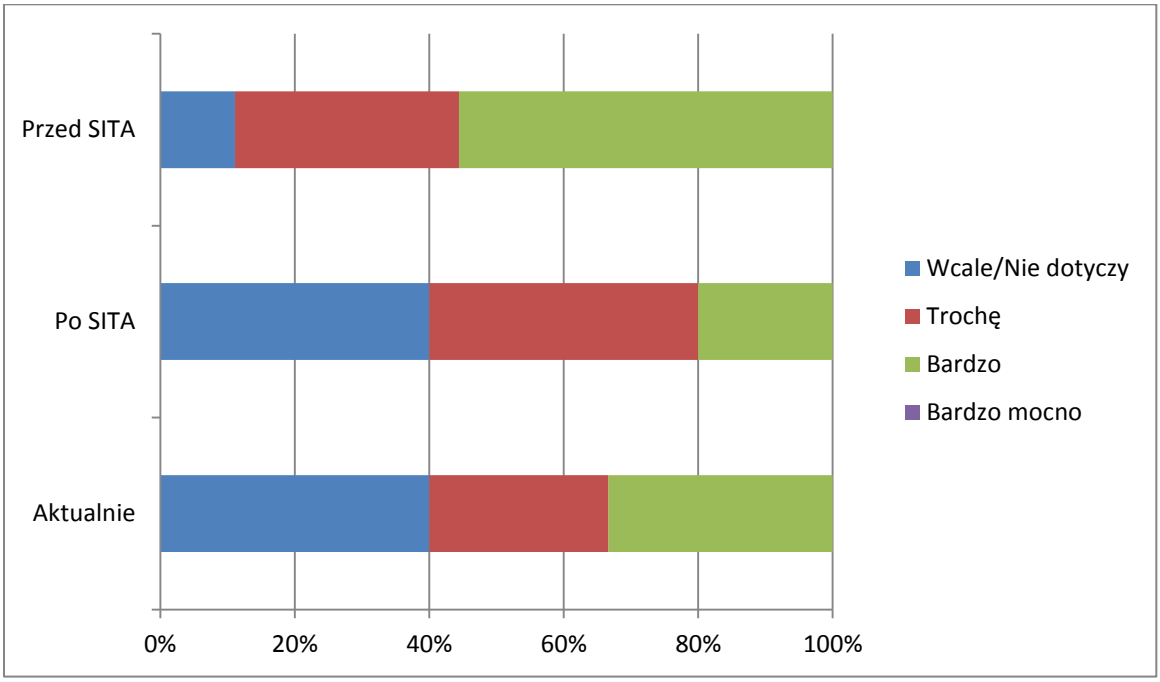
Ryc.9. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 1 DLQI – „W jakim stopniu odczuwał/a Pan/Pani w ostatnim tygodniu swędzenie, bolesność, pieczenie lub mrowienie skóry?”



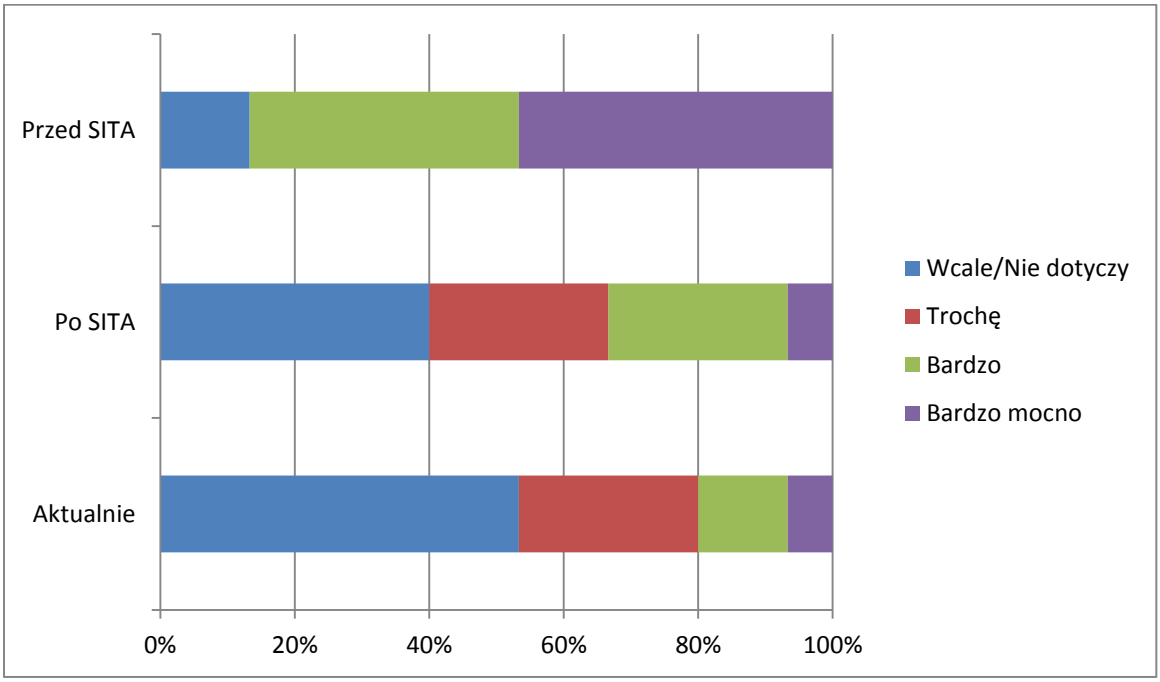
Ryc.10. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 2 DLQI - W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia był/a Pan/Pani zakłopotany/a lub zażenowany/a stanem swojej skóry?



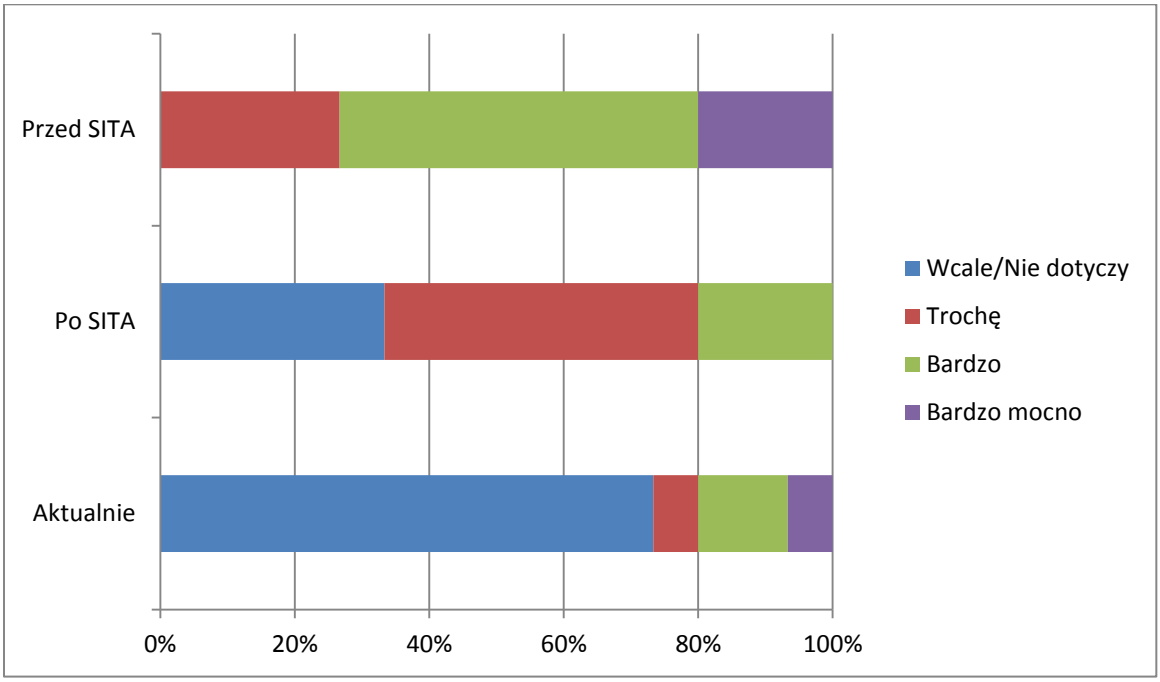
Ryc.11. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 3 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne przeszkadzały Panu/Pani w robieniu zakupów, wykonywaniu prac domowych lub ogrodniczych?”



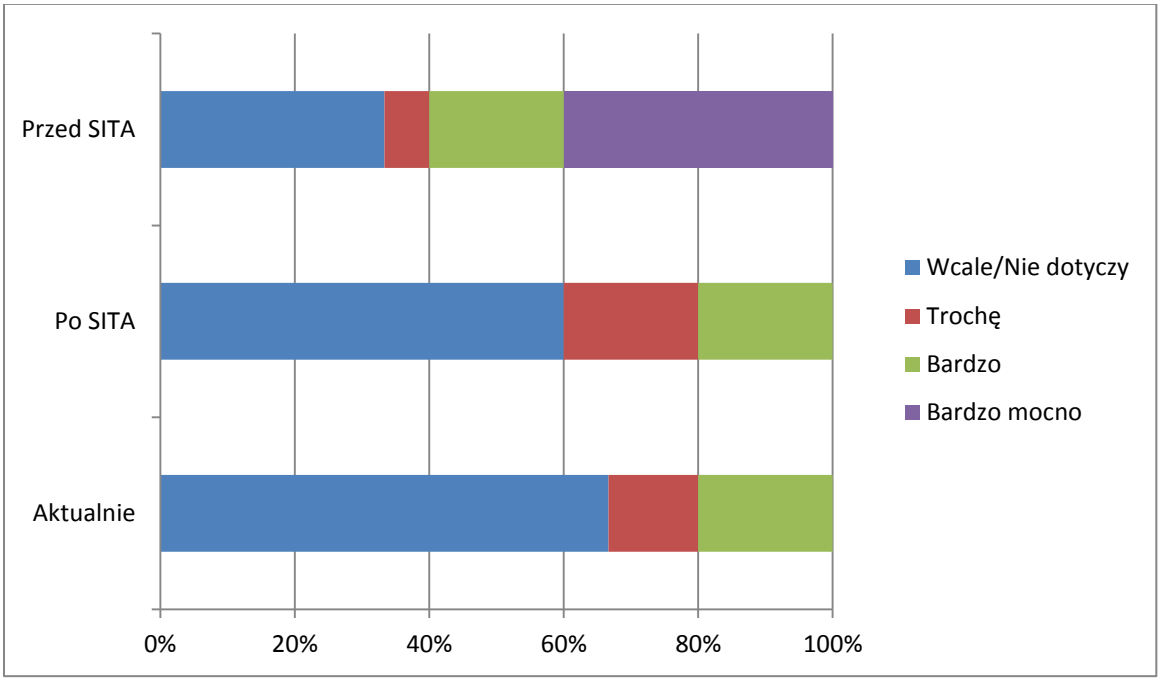
Ryc.12. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 4 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne wpływały na Pana/Pani ubiór?”



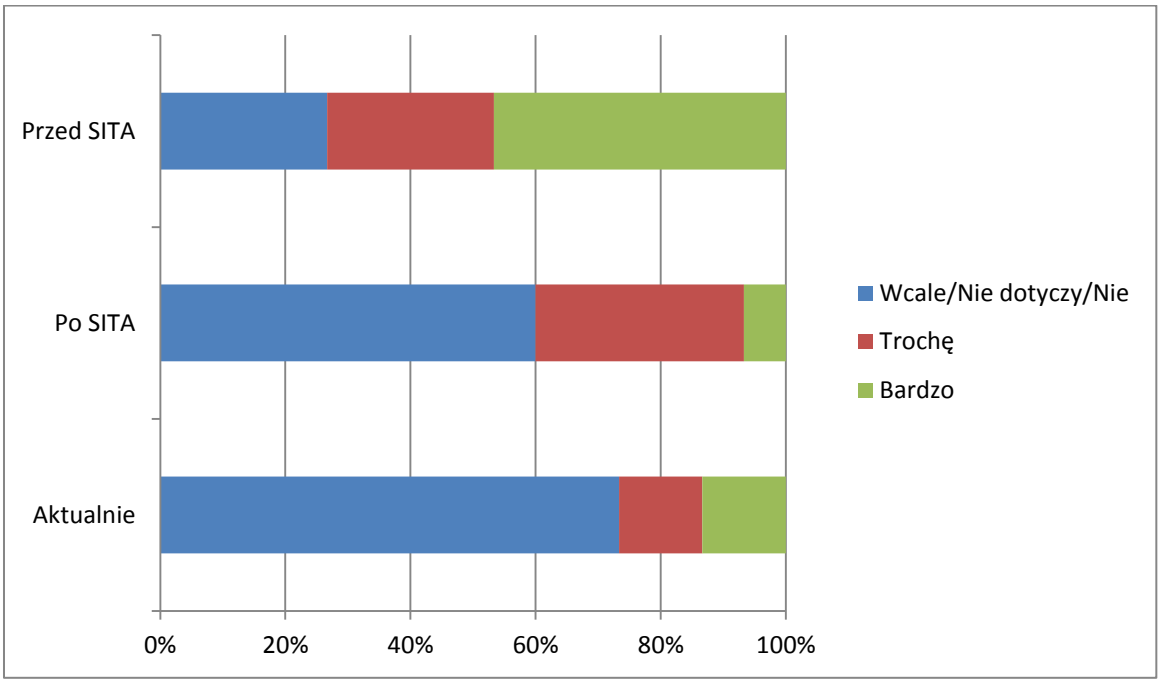
Ryc.13. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 5 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne wpływały na Pana/Pani życie towarzyskie lub spędzanie wolnego czasu?”



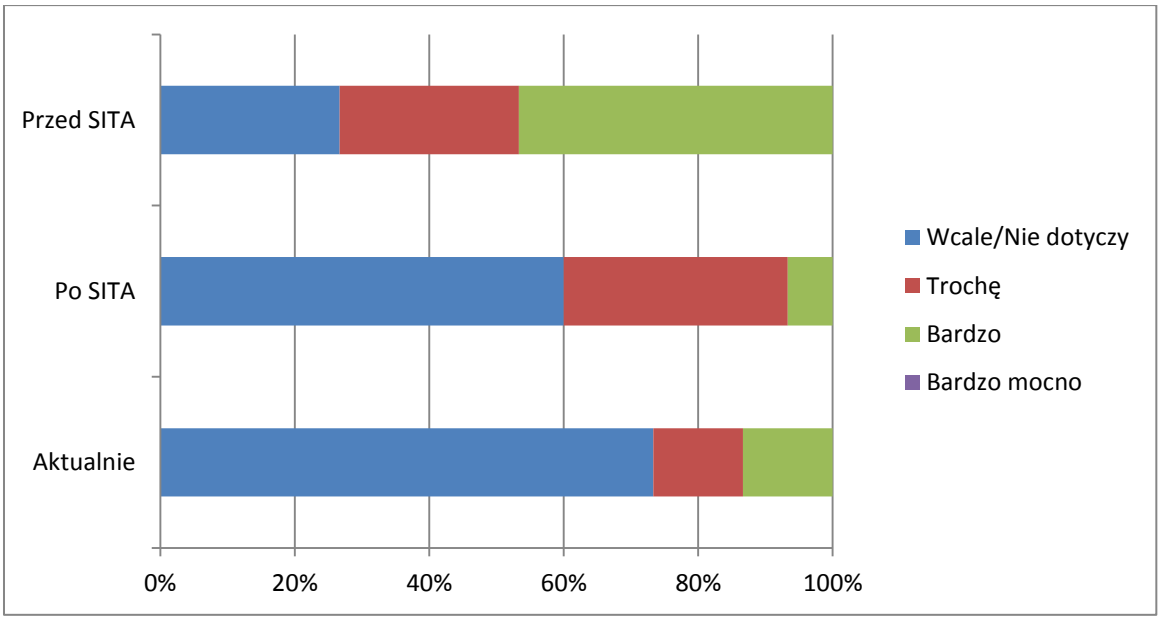
Ryc.14. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 6 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne przeszkadzały Panu/Pani w uprawianiu sportu?”



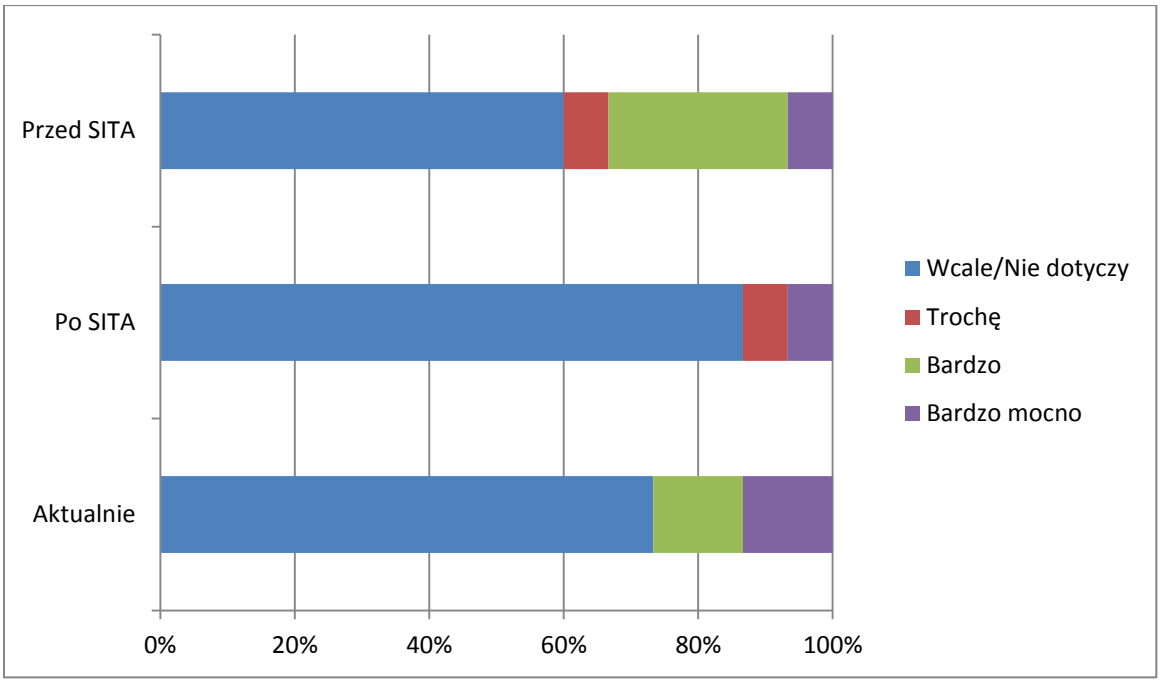
Ryc.15. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 7 DLQI – „Czy w ostatnim tygodniu dolegliwości skórne uniemożliwiały Panu/Pani pracę lub naukę? Jeśli odpowiedział Pan/Pani „Nie", to w jakim stopniu w ostatnim tygodniu dolegliwości skórne Pana/Pani utrudniały Panu/Pani pracę zawodową lub naukę?”



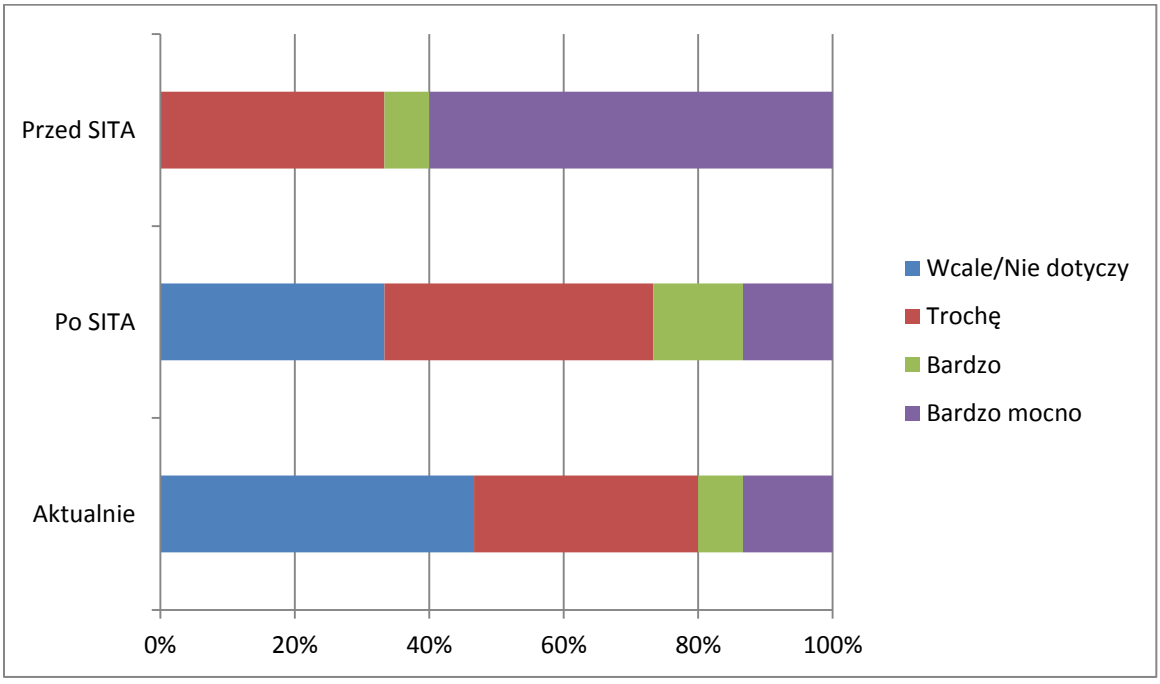
Ryc.16. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 8 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia dolegliwości skórne stanowiły problem w kontakcie z partnerem lub partnerką, przyjaciółmi lub rodziną?”



Ryc.17. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 9 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia stan Pana/Pani skóry utrudniał współżycie seksualne?”



Ryc.18. Rozkład odpowiedzi na pytanie nr 10 DLQI – „W jakim stopniu w okresie ostatniego tygodnia leczenie dolegliwości skórnych stanowiło dla Pana/Pani problem, taki jak np. utrudnienie utrzymania porządku czy nadmierne zaabsorbowanie czasu?”



4.4. Wyniki porównawczej oceny stężeń parametrów alergologicznych w surowicy krwi

Ocenę stężeń wybranych parametrów alergologicznych przeprowadzono przed rozpoczęciem leczenia szczepionkami alergenowymi, w trakcie (po 12 miesiącach trwania SITA), po zakończeniu SITA oraz aktualnie. Do analizy statystycznej wykorzystano nieparametryczny test Friedmana z testem wielokrotnych porównań Dunna.

4.4.1. Wyniki porównawczej oceny stężeń całkowitego IgE w surowicy krwi

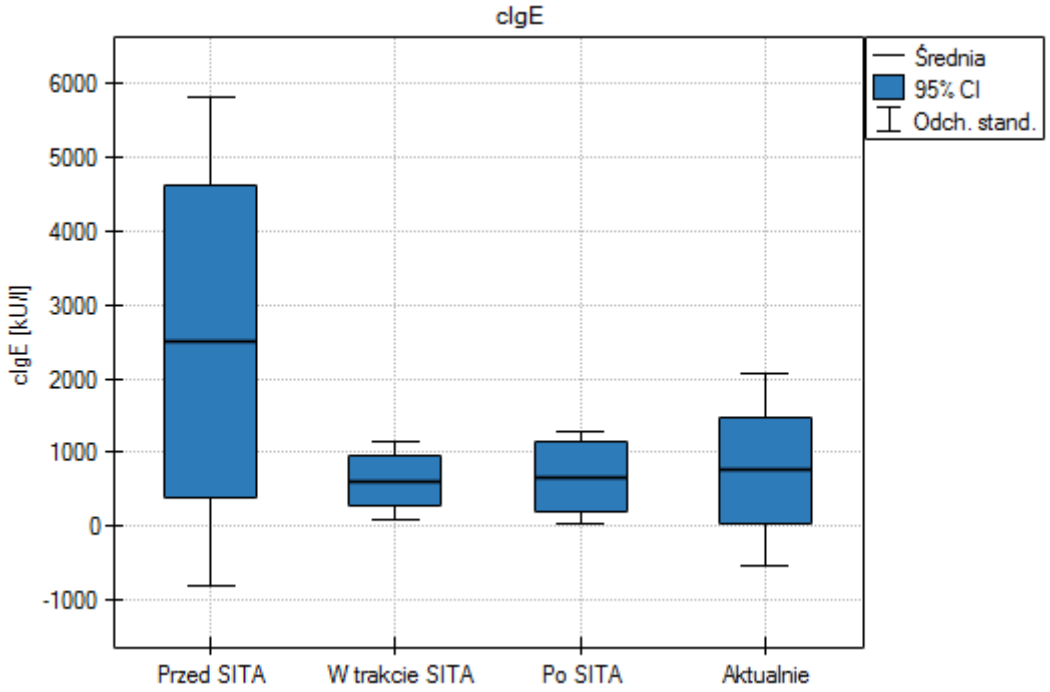
Średnie wartości uzyskanych wyników oznaczenia surowiczych stężeń cIgE przedstawia tab.11. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami cIgE aktualnie oznaczonych z wartościami przed, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia (p>0,05) (ryc.19).

Tab.11. Średnie surowicze stężenie cIgE ± SD przed rozpoczęciem, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia oraz wartość aktualna.

Punkt czasowy	cIgE (kU/l) ± SD
Przed SITA	2505,6 ± 3313,8
W trakcie SITA	612,1 ± 529,1
Po SITA	669,1 ± 622,8
Aktualnie	764,7 ± 1302,7

* cIgE	- aktualnie a przed SITA:	p>0,05
	- aktualnie a w trakcie SITA:	p>0,05
	- aktualnie a po SITA:	p>0,05

Ryc.19. Średnie surowicze stężenie clgE przed, w trakcie, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



4.4.2. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE w surowicy krwi

4.4.2.1. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom roztocza kurzu domowego w surowicy krwi

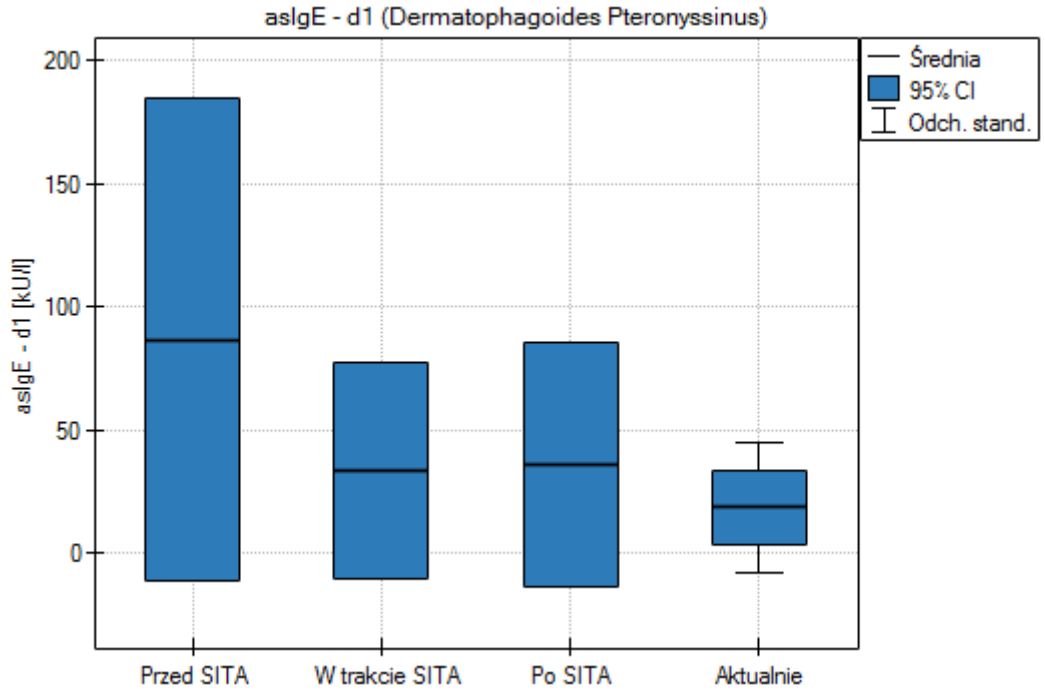
W analizowanych punktach czasowych oznaczono surowicze stężenia asIgE skierowanych przeciwko Dermatophagoides pteronyssinus (d1) oraz Dermatophagoides farinae (d2). Średnie wartości przeciwciał przedstawia tab.12. Porównując wartości aktualne z uzyskanymi przed, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic ($p>0,05$) zarówno w przypadku antygenów Dermatophagoides pteronyssinus (d1), jak i Dermatophagoides farinae (d2)(ryc.20 i 21).

Tab. 12. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów roztocza kurzu domowego (d1, d2) przed rozpoczęciem, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia oraz wartości aktualne.

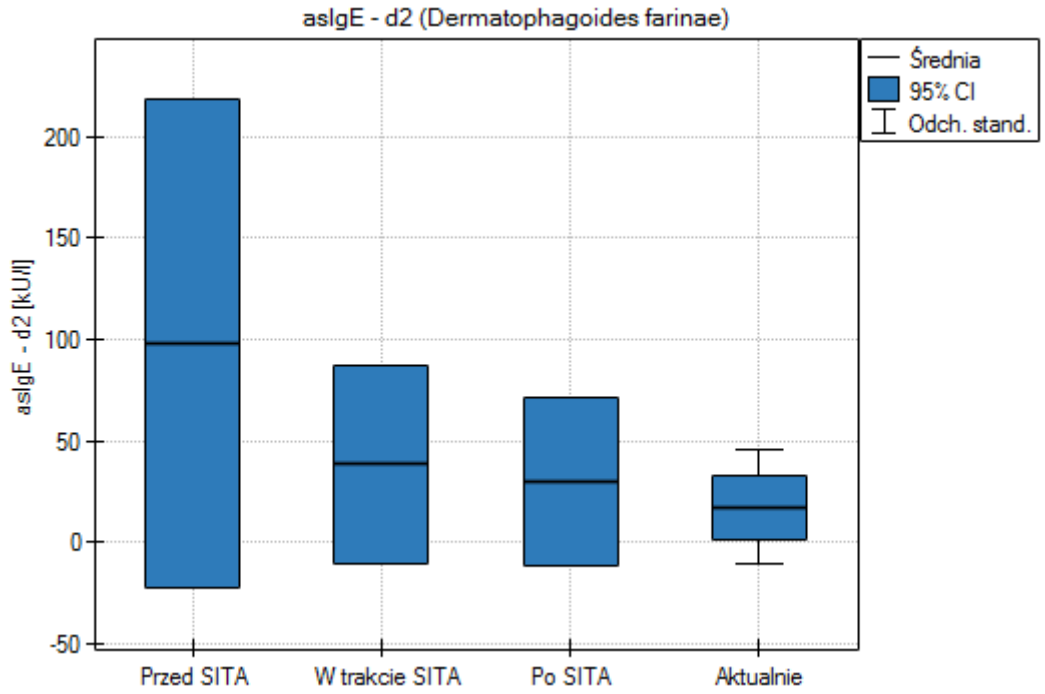
Punkt czasowy	asIgE dla antygenów D. pteronyssinus (d1) [kU/l] ± SD	asIgE dla antygenów D. farinae (d2) [kU/l] ± SD
Przed SITA	86,5 ± 93,5	98,0 ± 114,6
W trakcie SITA	33,5 ± 42,0	38,4 ± 46,2
Po zakończeniu SITA	35,7 ± 47,2	29,8 ± 39,7
Aktualnie	18,3 ± 26,7	17,3 ± 28,1

* asIgE - d1 i d2	- aktualnie a przed SITA:	p>0.05
	- aktualnie a w trakcie SITA:	p>0,05
	- aktualnie a po SITA:	p>0,05

Ryc. 20. Średnie surowicze stężenie asIgE dla alergenów D. pteronyssinus przed, w trakcie i po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



Ryc. 21. Średnie surowicze stężenie asIgE dla alergenów D. farianae przed, w trakcie i po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



4.4.2.2. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom życicy trwałej w surowicy krwi

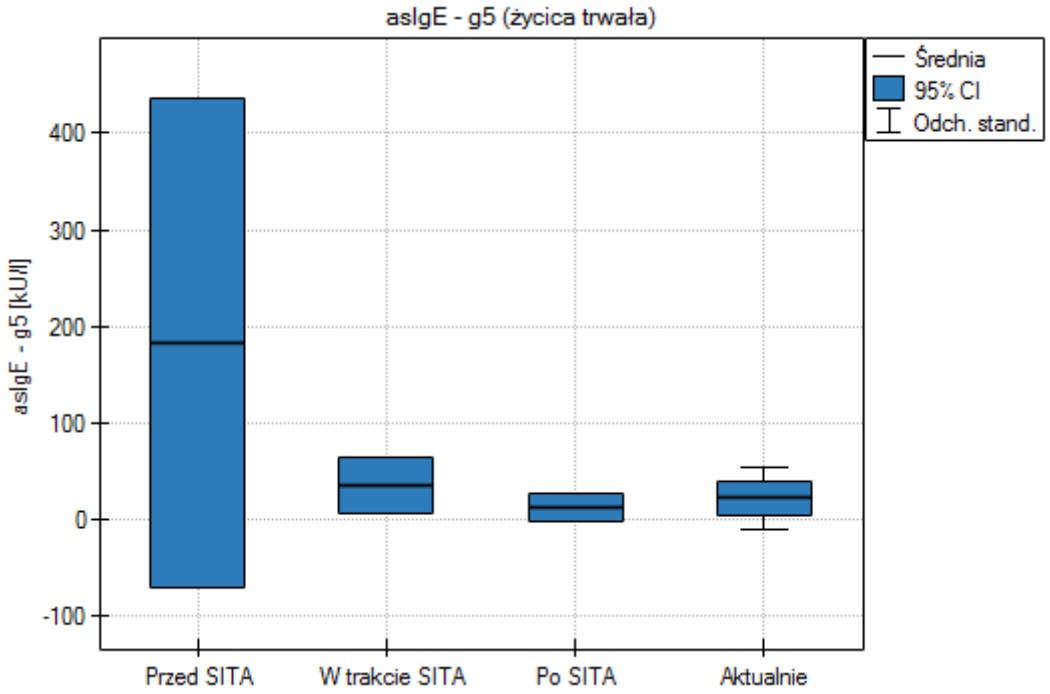
Średnie wartości uzyskanych surowiczych stężeń asIgE skierowanych przeciwko antygenom życicy trwałej (g5) przedstawia tab.13. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami asIgE dla życicy trwałej w przypadku porównania wartości aktualnych z wartościami przed, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia (p>0,05) (ryc.22).

Tab.13. Średnie surowicze stężenie surowiczego asIgE ± SD dla antygenów życicy trwałej (g5) przed rozpoczęciem leczenia, w trakcie, po jego zakończeniu oraz wartość aktualna.

Punkt czasowy	asIgE dla antygenów życicy trwałej (g5) [kU/l] ± SD
Przed SITA	183,1 ± 241,3
W trakcie SITA	35,7 ± 26,7
Po SITA	12,5 ± 13,4
Aktualnie	53,1 ± 32,6

* asIgE - g5	- aktualnie a przed SITA:	p>0.05
	- aktualnie a w trakcie SITA:	p>0.05
	- aktualnie a po SITA:	p>0.05

Ryc.22. Średnie surowicze stężenie asIgE dla antygenów życicy trwałej (g5) przed rozpoczęciem, w trakcie, po zakończeniu leczenia oraz wartość aktualna.



4.4.2.3. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom tymotki łąkowej w surowicy krwi

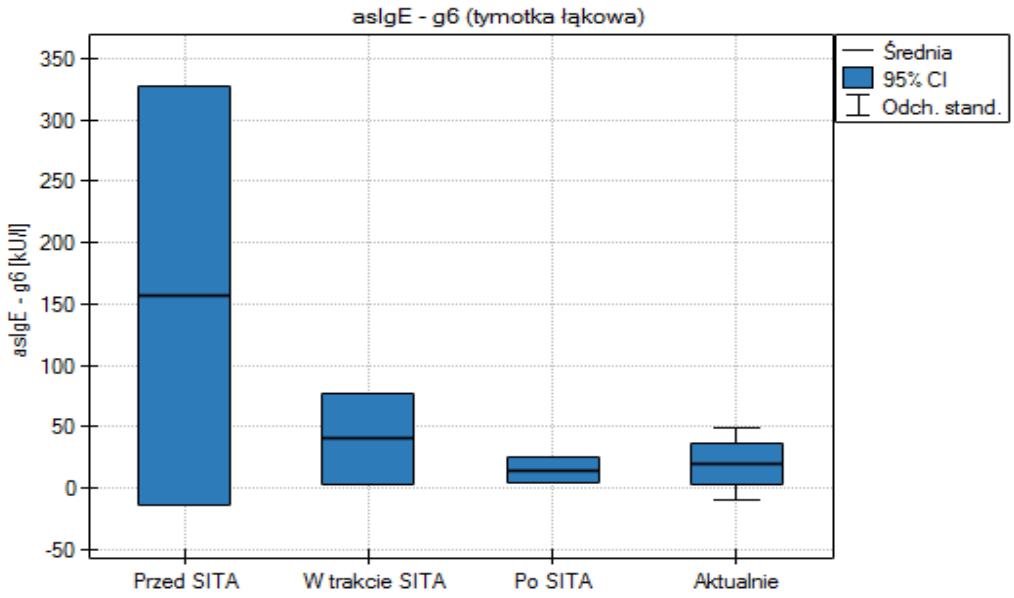
Średnie wartości uzyskanych surowiczych stężeń asIgE w odniesieniu do antygenów tymotki łąkowej (g6) przedstawia tab.14. Analiza statystyczna nie ujawniła istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami asIgE dla tymotki łąkowej w przypadku porównania wartości aktualnych z wartościami przed, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia (p>0,05) (ryc.23).

Tab.14. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów tymotki łąkowej (g6) przed rozpoczęciem, w trakcie, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Punkt czasowy	asIgE dla antygenów tymotki łąkowej (g6) [kU/l] ± SD
Przed SITA	156,8± 162,6
W trakcie SITA	40,3 ± 35,2
Po SITA	14,6 ± 10,1
Aktualnie	19,7 ± 29,8

* asIgE – g6	- aktualnie a przed SITA:	p>0,05
	- aktualnie a w trakcie SITA:	p>0,05
	- aktualnie a po SITA:	p>0,05

Ryc. 23. Średnie surowicze stężenie asIgE dla alergenów tymotki łąkowej (g6) przed, w trakcie SITA oraz wartość aktualna.



4.4.2.4. Wyniki porównawczej oceny stężeń antygenowo swoistych IgE skierowanym przeciwko antygenom żyta w surowicy krwi

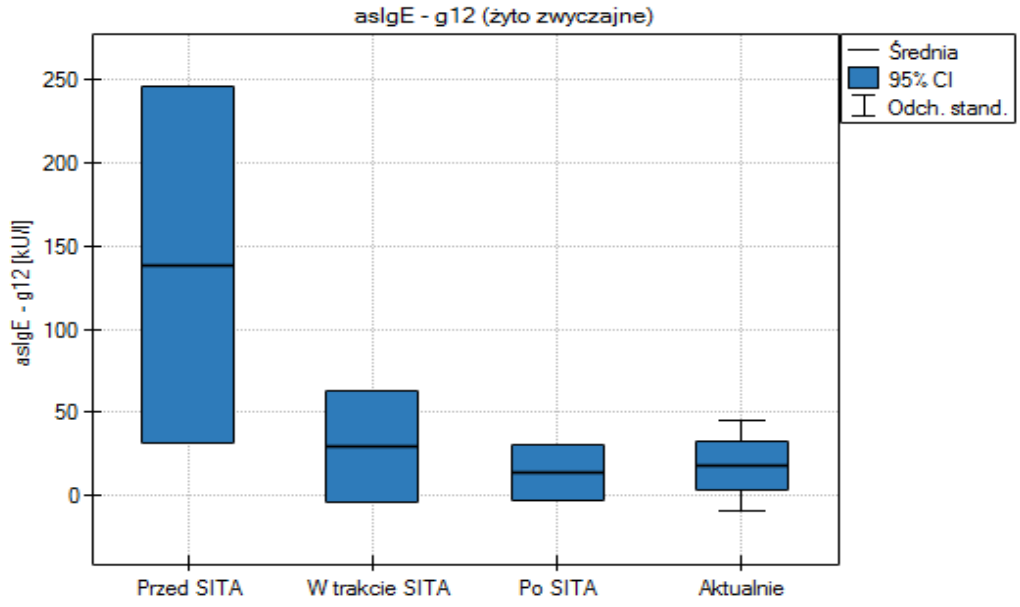
Średnie wartości uzyskanych surowiczych stężeń asIgE skierowanych przeciwko antygenom żyta zwyczajnego (g12) przedstawia tab.15. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami asIgE w odniesieniu do żyta zwyczajnego w przypadku porównania wartości aktualnych z wartościami przed, w trakcie oraz po zakończeniu leczenia (p>0,05)(ryc.24).

Tab.15. Średnie surowicze stężenie asIgE ± SD dla antygenów żyta zwyczajnego (g12) przed rozpoczęciem, w trakcie, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Punkt czasowy	asIgE dla antygenów żyta zwyczajnego (g12) [kU/l] ± SD
Przed SITA	138,9 ± 102,3
W trakcie SITA	29,4 ± 32,1
Po SITA	13,9 ± 15,8
Aktualnie	17,9 ± 27,1

* asIgE – g12	- aktualnie a przed SITA:	p>0,05
	- aktualnie a w trakcie SITA:	p>0,05
	- aktualnie a po SITA:	p>0,05

Ryc. 24. Średnie surowicze stężenie asIgE dla alergenów żyta zwyczajnego (g12) przed, w trakcie SITA oraz wartość aktualna.



4.5. Wyniki porównawczej oceny stężeń wybranych cytokin w surowicy krwi

Wszystkie badane parametry immunologiczne zostały oznaczone przed rozpoczęciem SITA, po zakończeniu leczenia oraz aktualnie. Analiza statystyczna opierała się na nieparametrycznym teście ANOVA Friedmana z testem wielokrotnych porównań Dunna.

4.5.1. Wyniki porównawczej oceny surowiczych stężeń cytokin o profilu Th2: IL-4, INF- γ

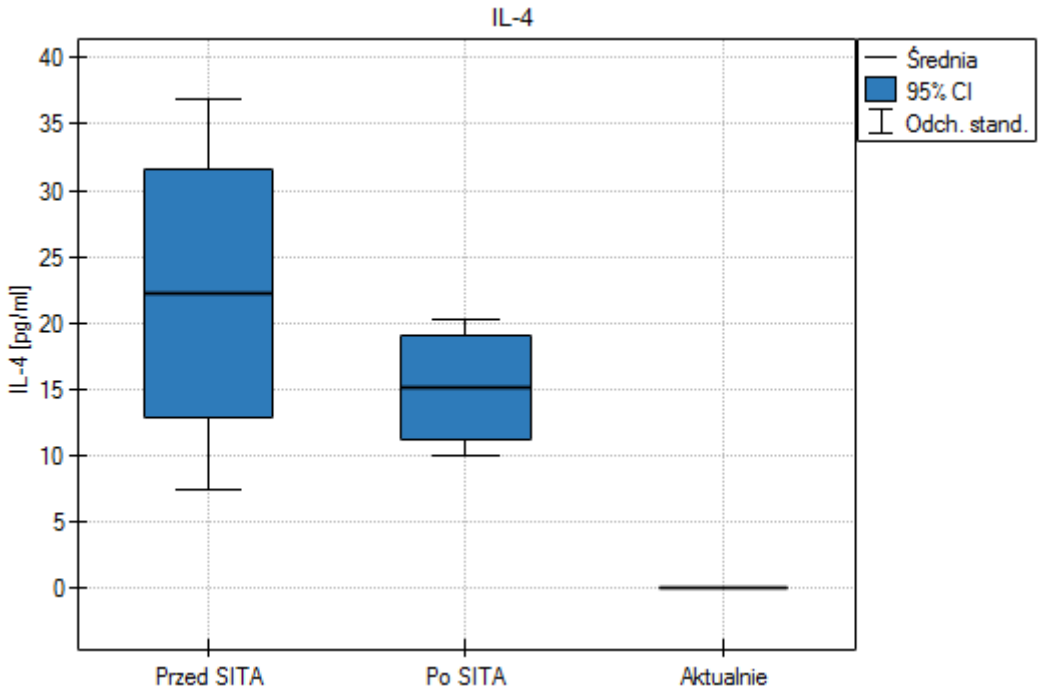
Średnie surowicze stężenia cytokin o profilu Th2 umieszczono w tab.16. Porównując wyniki oznaczeń surowiczego stężenia IL-4 uzyskane aktualnie z wartościami sprzed rozpoczęcia leczenia szczepionkami alergenowymi uzyskano bardzo istotną statystycznie różnicę ($p<0,01$). W przypadku porównania aktualnych stężeń IL-4 w porównaniu z wartościami oznaczonymi po zakończeniu SITA różnica była również statystycznie istotna ($p<0,05$) (ryc.25). W przypadku INF- γ aktualne wyniki nie różniły się istotnie z wartościami sprzed oraz po zakończeniu leczenia szczepionkami alergenowymi ($p>0,05$)(ryc.26).

Tab.16. Średnie surowicze stężenie cytokin o profilu Th2 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartości aktualne.

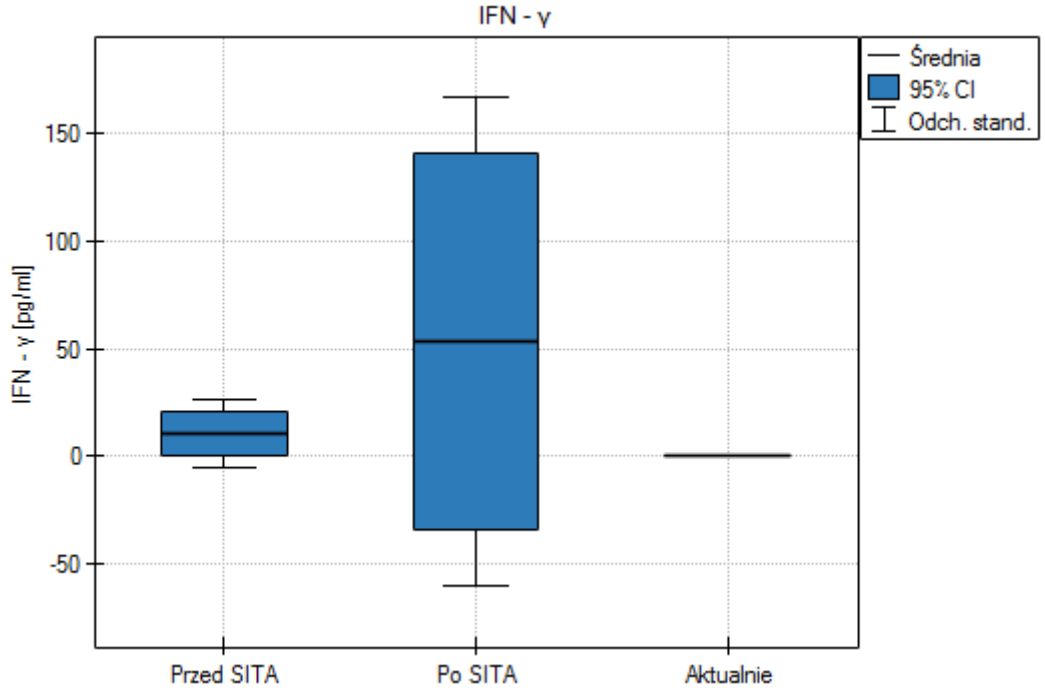
Punkt czasowy	IL-4 [pg/ml] ± SD	INF- γ [pg/ml] ± SD
Przed SITA	22,2 ± 14,7	10,6 ± 15,7
Po SITA	15,1 ± 5,1	53,5 ± 113,6
Aktualnie	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0

* IL-4	- aktualnie a przed SITA	p<0,01
	- aktualnie a po SITA	p<0,05
* INF- γ	- aktualnie a przed SITA	p>0,05
	- aktualnie a po SITA	p>0,05

Ryc.25. Średnie surowicze stężenie IL-4 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



Ryc.26. Średnie surowicze stężenie IFN-γ przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



4.5.2. Wyniki porównawczej oceny stężeń cytokin o profilu Th1: sIL-2R, IL-5, IL-10

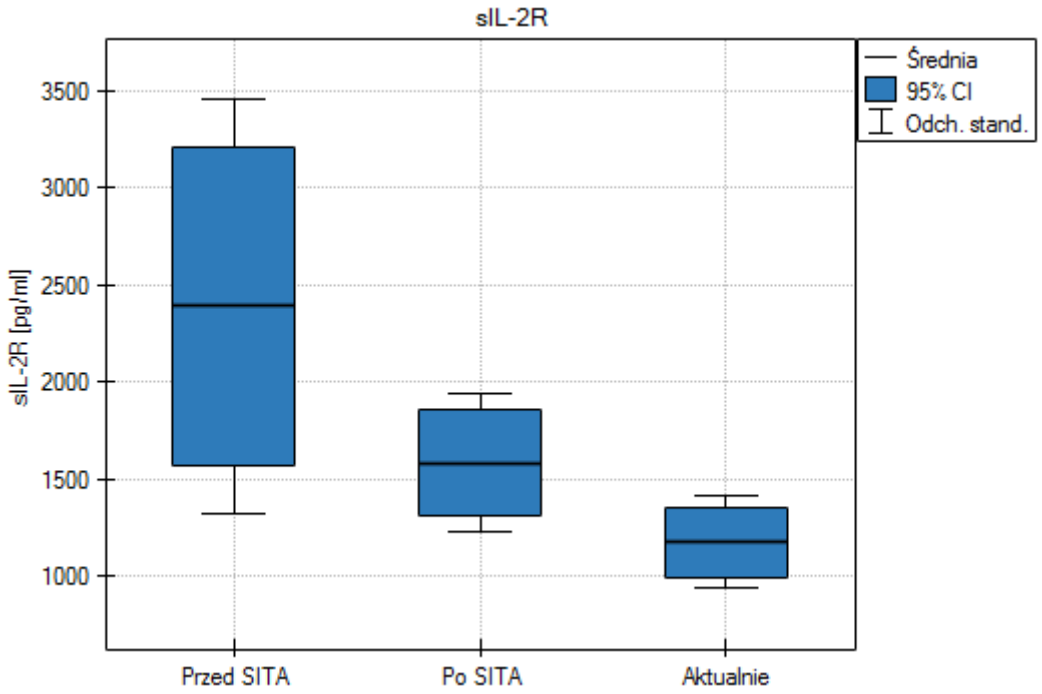
Średnie stężenia wybranych cytokin o profilu Th1 w surowicy krwi chorych na AZS umieszczono w tab.17. Porównując aktualne wyniki stężeń sIL-2R z wynikami sprzed SITA wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy uzyskanymi wartościami ($p<0,05$), natomiast różnica pomiędzy aktualnymi wynikami a oznaczonymi po zakończeniu SITA była nieistotna statystycznie ($p>0,05$)(ryc.27). Analiza statystyczna wartości stężeń IL-5, wykazała brak istotnej statystycznie różnicy pomiędzy wartościami aktualnymi a wartościami przed i po SITA ($p>0,05$)(ryc.28). Natomiast porównując aktualne surowicze stężenia IL-10 z wartościami sprzed leczenia nie wykazano istotnej statystycznie różnicy ($p>0,05$) w przeciwieństwie do porównania z wartościami po zakończeniu SITA, kiedy to wykazano istotną statystycznie różnicę ($p<0,01$)(ryc.29).

Tab.17. Średnie surowicze stężenie cytokin o profilu Th1 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartości aktualne.

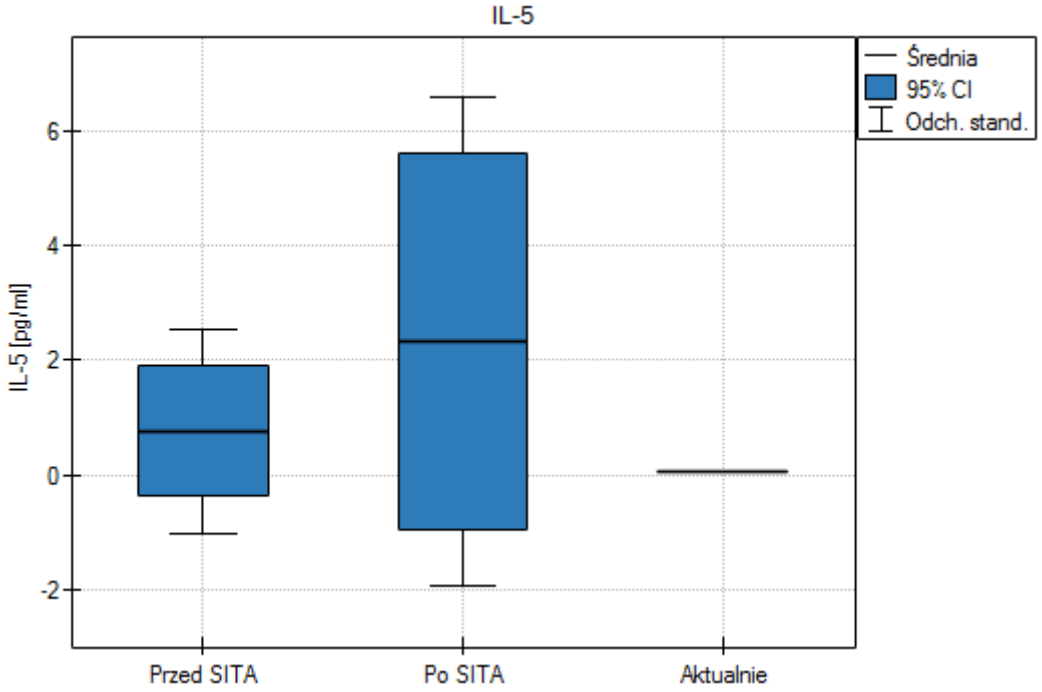
Punkt czasowy	sIL-2R [pg/ml] ± SD	IL-5 [pg/ml] ± SD	IL-10 [pg/ml] ± SD
Przed SITA	2180,8 ± 995,5	0,8 ± 1,8	3,8 ± 3,2
Po SITA	1584,4 ± 356,9	2,3 ± 4,3	8,7 ± 10,1
Aktualnie	1152,8 ± 188,9	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0

* sIL-2R	- aktualnie a przed SITA	p<0,05
	- aktualnie a po SITA	p>0,05
* IL-5	- aktualnie a przed SITA	p>0,05
	- aktualnie a po SITA	p>0,05
* IL-10	- aktualnie a przed SITA	p>0,05
	- aktualnie a po SITA	p<0,01

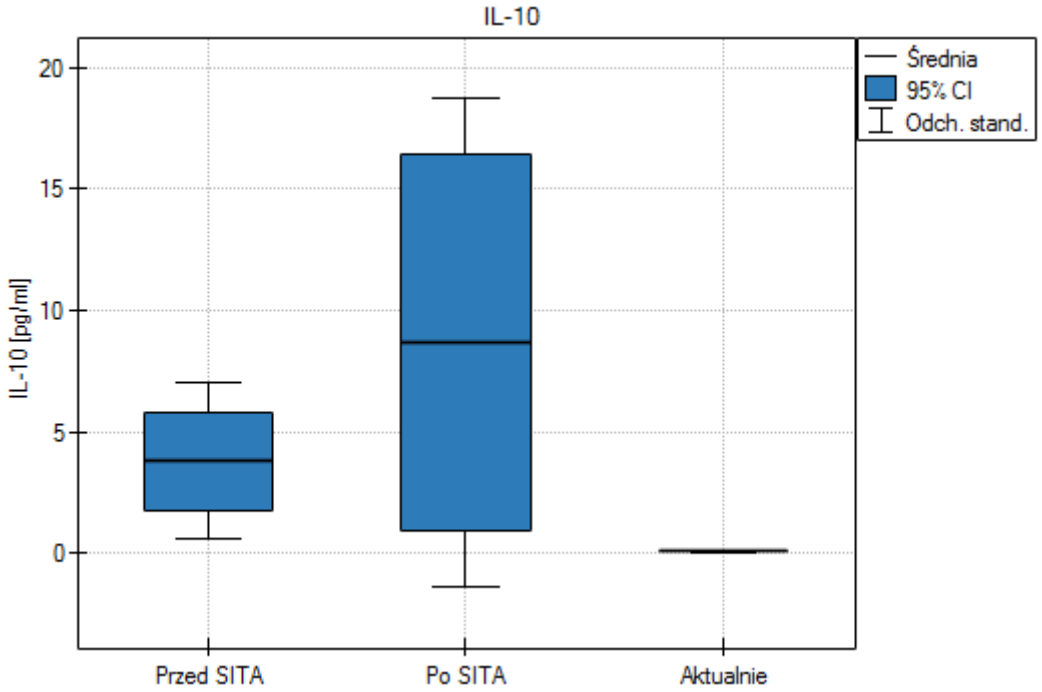
Ryc.27. Średnie surowicze stężenie sIL-2R przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



Ryc.28. Średnie surowicze stężenie IL-5 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



Ryc.29. Średnie surowicze stężenie IL-10 ± SD przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



4.5.3. Wyniki porównawczej oceny stężeń ECP w surowicy krwi

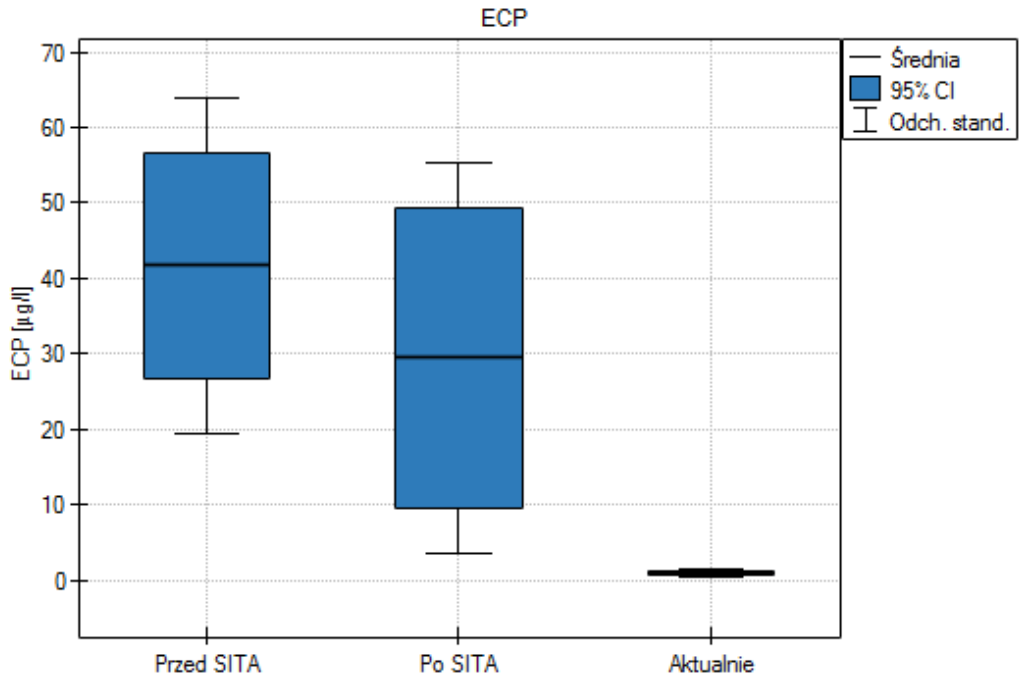
Średnie wartości surowiczego stężenia ECP umieszczono w tab.18. Wykazano istotne statystycznie różnice pomiędzy aktualnymi wynikami a tymi sprzed SITA ($p<0,001$) oraz po zakończeniu leczenia szczepionkami alergenowymi ($p<0,05$)(ryc.30).

Tab.18. Średnie surowicze stężenie ECP przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.

Punkt czasowy	ECP [µg/l] ± SD
Przed SITA	41,7 ± 22,2
Po SITA	29,5 ± 26,0
Aktualnie	1,0 ± 0,6

* ECP	- aktualnie a przed SITA	p<0,001
	- aktualnie a po SITA	p<0,05

Ryc.30. Średnie surowicze stężenie ECP przed rozpoczęciem, po zakończeniu SITA oraz wartość aktualna.



5. Omówienie wyników i dyskusja

W tym miejscu pragnę podkreślić, tak jak już wcześniej wspomniano w rozdziale opisującym materiał, że wyniki uzyskano badając grupę chorych o niewielkiej liczebności, co wynika z niestandardowego charakteru leczenia, jakim jest SITA w przebiegu AZS. Ponadto warto za zaznaczyć, że w zasadzie wszystkie badania dotyczące odległej oceny skuteczności SITA przeprowadzone w innych chorobach atopowych także charakteryzują się podobną liczebnością grup [Eng 2006, Marogna 2010, Ohashi 1998]. W najbliższej przyszłości planowane jest przeprowadzenie wspólnego, zbiorczego projektu wieloośrodkowego opierającego się na współpracy z niemieckimi ośrodkami w Berlinie oraz Hanowerze jako kontynuacja i rozszerzenie tematyki niniejszej pracy.

5.1. Omówienie skuteczności immunoterapii swoistej u chorych na AZS na podstawie stanu klinicznego wyrażonego wskaźnikiem W-AZS

Zastosowany wskaźnik W-AZS umożliwia szczegółową i względnie obiektywną ocenę stanu zapalnego skóry w przebiegu AZS ze względu na rozróżnienie zmian typowych dla ostrego od przewlekłego stanu zapalnego skóry oraz ocenę poszczególnych jej obszarów objętych procesem chorobowym. Uważa się, że dzięki temu możliwa jest kliniczna ocena najbardziej oddająca rzeczywisty stan dermatologiczny pacjenta.

Stan kliniczny pacjentów przed rozpoczęciem SITA oceniony został średnią wartością W-AZS wynoszącą 102,6 pkt. Wartość ta była najwyższa w całym procesie leczenia, co oznacza, że chorzy byli w najcięższym stanie dermatologicznym przed rozpoczęciem SITA. Natomiast po zakończeniu terapii szczepionkami alergenowymi uzyskaną poprawę stanu klinicznego odzwierciedlał spadek wskaźnika W-AZS do średniej wynoszącej 45,6 pkt. Co jest niezwykle ważne to fakt, że stan chorych z upływem czasu, pomimo zakończenia SITA nadal poprawiał się, uzyskując najniższy wynik wskaźnika W-AZS, którego średnia wynosiła 16,6 pkt. A zatem obserwowano

stałą, postępującą poprawę stanu klinicznego chorych na przestrzeni kolejnych lat, co wydaje się niezwykle interesującym spostrzeżeniem i jest naszym zdaniem odległym wynikiem skutecznej terapii jaką okazała się SITA. Skuteczność SITA w aspekcie poprawy stanu klinicznego przeanalizowano również na podstawie składu alergenowego stosowanych szczepionek. W rezultacie nie obserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupą chorych leczonych SITA w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego a pyłków traw i zbóż na żadnym etapie prowadzonej obserwacji, tj przed rozpoczęciem SITA (p=0,3) ani aktualnie (p=0,18). Również wiek chorych w momencie rozpoczęcia SITA nie miał wpływu na uzyskaną skuteczność leczenia. I tak różnice skuteczności pomiędzy grupą chorych dzieci (wiek <18 r.ż.) a dorosłych (wiek >18 r.ż.) nie były istotne z punktu widzenia statystycznego zarówno przed leczeniem (p=0,43) jak i aktualnie (p=0,55).

W piśmiennictwie dotyczącym możliwości zastosowania SITA w leczeniu chorych na AZS znaleźć można zaledwie kilka publikacji poruszających kwestię odległej oceny skuteczności SITA. Jedyną z nich jest praca Steiner i wsp., w której autorzy retrospektywnie ocenili odległą w czasie skuteczność SLIT u dzieci chorych na alergiczny nieżyt nosa i spojówek (ANNS), astmę i AZS. Ocena stanu klinicznego pacjentów opierała się jednak tylko na wynikach telefonicznie przeprowadzonego wywiadu , który przeprowadzano po upływie do 6 lat od zakończenia leczenia. Stan kliniczny pacjentów oceniany był w skali 6-punktowej, w której jeden punkt oznaczał stan bezobjawowy, a sześć punktów bardzo nasilone objawy kliniczne. Niestety ocena była w takiej sytuacji nieprecyzyjna i oparta na subiektywnej, trudnej do weryfikacji samoocenie pacjenta. W badaniu tym stwierdzono, że w przypadku AZS stan kliniczny chorych przed rozpoczęciem SLIT oceniany był w 57% chorych na 4, 5 lub 6 punktów. Bezpośrednio po zakończeniu leczenia oraz w przedziale czasowym do roku przed przeprowadzeniem ankiety stan dermatologiczny znacząco poprawił się. I tak w przypadku chorych na AZS prezentujących całoroczną alergię powietrznopochodną w obu wspomnianych okresach ocena kliniczna mieściła się w granicach od 1 do 2 punktów (stan bezobjawowy lub niewielkie nasilenie objawów), co naturalnie wskazuje na tendencję do utrzymywania się uzyskanej w przebiegu SLIT poprawy stanu klinicznego. Poprawa kliniczna chorych zarówno tuż po zakończeniu leczenia jak i po okresie obserwacyjnym jest istotna statystycznie w porównaniu do stanu przed SLIT (p<0,05) [Steiner 2009].

W związku z brakiem innych doniesień naukowych dotyczących skuteczności SITA u chorych na AZS na podstawie stanu klinicznego, w dalszej części pracy do szerszej analizy porównawczej uzyskanych wyników zastosowano dane dotyczące chorych na ANNS. W ocenie klinicznej tej grupy pacjentów posłużono się wskaźnikiem DSS (ang. daily symptom score - DSS). DSS polega na codziennej ocenie czterech objawów zapalenia błony śluzowej nosa (katar, uczucie zatkanego nosa, kichanie i swędzenie nosa) oraz dwóch objawów zapalenia spojówek (uczucie „piasku w oczach" i łzawienie) w 4-punktowej skali od zera (brak objawów) do trzech (ciężkie objawy). W 2012 r. Durham i wsp. wykazali istotną skuteczność SLIT zarówno bezpośrednią jak i odległą w przypadku chorych na ANNS uczulonych na alergeny pyłku traw i zbóż. Badanie to prowadzono w warunkach próby podwójnie ślepej, kontrolowanej placebo, co daje wiarygodne podstawy do wnioskowania końcowego. Codzienne leczenie szczepionkami podjęzykowymi rozpoczęto od 4 do 6 miesięcy przed oczekiwanym rozpoczęciem sezonu pylenia i kontynuowano przez 3 lata. Następnie chorzy pozostawali w okresie obserwacyjnym przez dwa kolejne lata. Autorzy wykazali, że średnia wartość DSS w każdym z kolejnych pięciu obserwowanych sezonów pylenia, tj. sezonów pylenia obejmujących leczenie oraz okres obserwacyjny, uległa istotnej statystycznie poprawie w porównaniu do grupy placebo. Po zakończeniu SLIT wskaźnik DSS w grupie leczonej aktywnie był o 29% niższy w porównaniu do grupy placebo. Po rocznym okresie obserwacyjnym, czyli po roku od zakończenia SLIT, redukcja wskaźnika DSS w grupie chorych leczonych aktywnie w porównaniu do grupy placebo była większa o 26% ($p<0,001$), natomiast po dwóch latach od zakończenia SLIT o 25% ($p=0,004$). Przewagę SLIT nad placebo wykazano praktycznie na każdym etapie prowadzonego badania [Durham 2012].

Odległą poprawę stanu klinicznego po zakończeniu SLIT u chorych na ANNS uczulonych na alergeny pyłków traw zarejestrował też Didier [Didier 2013]. Leczenie prowadzono w schemacie okołosezonowym przez okres 3 lat, a następnie chorych objęto rocznym okresem obserwacyjnym, po którym oceniono skuteczność SLIT. Do oceny nasilenia objawów chorobowych w ANNS zastosowano wskaźnik RTSS (ang. Rhinoconjunctivitis Symptom Score). Ocenia on nasilenie sześciu objawów chorobowych takich jak: kichanie, wyciek z nosa, świąd i blokada nosa, świąd i łzawienie oczu. Nasilenie każdego objawu ocenia się w skali od 0 (brak objawu) do 3

(duże nasilenie). Suma uzyskanych punktów wynosi od 0 (brak objawów) do 18 punktów (maksymalne nasilenie objawów). Po roku od zakończenia leczenia, w grupie chorych rozpoczynających SLIT 4 miesiące przed okresem pylenia zaobserwowano o 21,0% niższą średnią wartość wskaźnika RTSS niż grupie placebo. W grupie chorych rozpoczynających SLIT 2 miesiące przed okresem pylenia zaobserwowano o 27,9% niższą średnią wartość wskaźnika RTSS w porównaniu do grupy placebo. W przypadku obu grup chorych leczonych aktywnie poprawa stanu klinicznego i redukcja objawów chorobowych były istotne statystycznie w porównaniu do grupy placebo.

Z kolei Marogna i wsp. w 2010 r. przeprowadzili ocenę odległej skuteczności SLIT u chorych na alergiczny nieżyt nosa z/bez towarzyszącej astmy. Pacjenci wykazywali alergię powietrznopochodną w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego. Stan kliniczny oceniany był przy zastosowaniu wskaźnika SMS , który umożliwia rejestrację objawów i zużycia leków (ang. SMS – symptoms plus medication score). Analizie punktowej poddawano 10 wybranych objawów klinicznych, a mianowicie swędzenie nosa, kichanie, uczucie blokady nosa, katar, kaszel, świszczący oddech, duszność, świąd spojówek, zaczerwienienie i łzawienie. Objawy te oceniano w skali od 0 (brak objawów) do 3 punktów (objaw bardzo dokuczliwy dla pacjenta) oraz dodatkowo za każdą konieczną do podania choremu dawkę leku dodawano 1 kolejny punkt. Chorzy biorący udział w badaniu leczeni byli SLIT w schemacie całorocznym przez 3, 4 lub 5 lat lub tworzyli grupę kontrolną. W przypadku wszystkich pacjentów leczonych SLIT bez względu na czas jego trwania, już po pierwszym roku leczenia zaobserwowano znaczącą poprawę stanu klinicznego w porównaniu do okresu przed rozpoczęciem leczenia. Po zakończeniu SLIT poprawa stanu klinicznego w porównaniu do stanu przed leczeniem nadal się utrzymywała. U chorych leczonych SLIT przez 3 lata po 6 latach po zaprzestaniu leczenia zaobserwowano korzystniejszy wpływ na stan kliniczny w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast w przypadku 4- i 5-letniego SLIT korzystniejszy wpływ w porównaniu do grupy kontrolnej utrzymywał się aż przez 7 lat [Marogna 2010].

Najbardziej odległą w czasie ocenę skuteczności SITA przeprowadzili jak dotychczas Eng i wsp. w 2006 r. Została ona przeprowadzona po 6 i 12 latach od rozpoczęcia leczenia w grupie chorych na ANNS z lub bez objawów astmy w okresie dzieciństwa. SITA prowadzona była w systemie przedsezonowym przy zastosowaniu

alergoidowych szczepionek alergenowych (pyłki traw) przez okres 3 lat. Odległą skuteczność kliniczną porównano z wynikami uzyskanymi w grupie chorych leczonych objawowo. Zarówno po 6 ($p<0,005$) jak i po 12 latach ($p<0,03$) od momentu zakończenia SITA poprawa stanu klinicznego wyrażona wartością wskaźnika nasilenia objawów klinicznych – TSS (ang. total symptom score) była istotnie większa niż u chorych leczonych farmakologicznie [Eng 2006].

Zatem analizując dostępne dane piśmiennicze i w świetle uzyskanych wyników badań własnych wydaje się, że SITA w perspektywie zarówno krótko- jak i długoterminowej poprawia stan kliniczny pacjentów prezentujących kliniczne objawy choroby atopowej, które wynikają (przynajmniej częściowo) z IgE-zależnego uczulenia w odniesieniu do rozmaitych alergenów powietrznopochodnych. Należy podkreślić, że obecne doniesienia naukowe w odniesieniu do odległej oceny skuteczności SITA u chorych na AZS są ograniczone. Jedyną dostępną pracą odnoszącą się do tego problemu jest praca Steiner i wsp., której fragment poświęcony chorym na AZS posiada wiele ograniczeń i zdaje się pobieżnie traktować temat. Nieliczność i ubogość danych literaturowych wydają się niezrozumiałe, tym bardziej, że populacja chorych na AZS, dla których SITA pozostaje leczeniem przyczynowym jest znaczna, a ocena jej skuteczności na podstawie parametrów klinicznych z praktycznego punktu widzenia ma fundamentalne znaczenie. W związku z tym niniejsza praca ma charakter nowatorski i postępowy, stanowiąc motywację i inspirację do dalszych badań na ten temat.

5.2. Omówienie skuteczności immunoterapii swoistej u chorych na AZS na podstawie oceny zużycia leków.

Monitorowanie zużycia leków polega na zbieraniu informacji dotyczących ilości stosowanych leków oraz analizie struktury i dynamiki ich zużywania. Takie działania oprócz pozyskiwania danych na temat zużycia leków w różnych obszarach geograficznych, próby charakterystyki grup lekarzy przepisujących leki, grup pacjentów otrzymujących określone leki, zgodności przyjmowania leków przez

pacjentów z zaleceniami lekarza (podporządkowania się zaleceniom lekarskim tzw. z ang. compliance), czy oceny korzyści i ryzyka związanych z ich przyjmowaniem ma również na celu określenie skuteczności różnych metod terapeutycznych. Zmniejszenie ilości stosowanych leków wynikające ze stopnia skuteczności przeprowadzonej metody terapeutycznej wpływa pozytywnie na aspekt ekonomiczny oraz psychologiczny chorego. Stąd w ostatnich latach ocena zużycia leków stała się sztandarowym elementem oceny skuteczności wszelkich wprowadzanych do powszechnej praktyki terapii.

W niniejszej pracy szczególną uwagę poświęcono ocenie zużycia leków przeciwhistaminowych (wyrażonych w liczbie tabletek/miesiąc), glikokortykosteroidów miejscowych (wyrażonych w gramach/miesiąc) oraz częstości aplikacji emolientów (wyrażonej w liczbie aplikacji/dobę). Przeprowadzona analiza była dość kłopotliwa i trudna zważywszy na różnorodność preparatów stosowanych na przestrzeni lat, na retrospektywny charakter badania i co się z tym wiąże orientacyjnymi danymi odnoszącymi się do przeszłości podawanymi przez chorych. Zaobserwowano ciągłą, postępującą tendencję do ograniczania konieczności stosowania praktycznie wszystkich preparatów leczniczych w ocenianym okresie czasowym. Natomiast istotne statystycznie ograniczenie zużycia leków zarejestrowano w przypadku porównania wartości przed rozpoczęcia SITA ze stanem aktualnym oraz przed SITA i tuż po zakończeniu leczenia. Liczba tabletek leków przeciwhistaminowych ulegała stopniowej redukcji ze średniej 58 tabletek/miesiąc przed SITA, do 28 tabletek/miesiąc tuż po zakończeniu SITA, a następnie do 18 tabletek/miesiąc na końcu okresu obserwacyjnego. Gramatura miejscowych preparatów glikokortykosteroidowych koniecznych do stosowania miesięcznie ulegała obniżeniu ze średniej wartości 94,7 g/miesiąc przed SITA, poprzez 32,3 g/miesiąc po zakończeniu leczenia aż do 24,3 g/miesiąc aktualnie koniecznych do stosowania przez chorych. Częstości aplikacji emolientów początkowo wynosiła średnio 2,5x/dobę, po zakończeniu leczenia 1,7x/dobę, natomiast obecnie 1,6x/dobę. Biorąc pod uwagę komentarze chorych podczas badania, należy podkreślić, że aktualna częstość aplikacji emolientów wynika często nie tyle z objawowego stanu dermatologicznego, co bardziej z dobrego nawyku codziennej konieczności nawilżania skóry wypracowanego przez lata, jak również z profilaktyki wynikającej z obawy przez nawrotem zmian chorobowych.

Podobne obserwacje poczynili inni badacze oceniający odległą skuteczność SITA w aspekcie zmniejszenia zapotrzebowania na preparaty lecznicze. We wspomnianych już wcześniej pracach Durham i wsp. przeprowadził taką analizę w grupie chorych na ANNS [Durham 2010, Durham 2012]. Oceniono odległą skuteczność okołosezonowego SLIT po upływie 4 i 5 lat od rozpoczęcia 3-letniej SLIT. Zapotrzebowanie na leki oceniono przy pomocy wskaźnika zużycia leków w ANNS – RMS (ang. Rhinoconjunctivitis Medication Score). Po roku od zakończenia SLIT grupa chorych leczonych aktywnie wykazała mniejsze zużycie leków o 29% niż grupa kontrolna. Średnia wartość RMS dla chorych poddanych SLIT w tym czasie wynosiła 2,3 pkt, w grupie kontrolnej natomiast 3,2 pkt, a różnica między wspomnianymi wartościami była istotna statystycznie (p=0,02). Podobne obserwacje poczyniono po dwóch latach od zakończenia SLIT. Mianowicie u chorych leczonych SLIT zarejestrowano o 20% mniejsze zużycie leków w porównaniu do grupy kontrolnej, a średnia wartość wskaźników RMS wynosiła odpowiednio 2,4 pkt i 3,0 pkt. Jednak różnica pomiędzy porównywanymi wskaźnikami RMS obu grup nie była istotna statystycznie (p=0,114) [Durham 2010, Durham 2012].

Wykazano zatem, że SITA jako praktycznie jedyne na dzień dzisiejszy leczenie przyczynowe chorób z kręgu atopii prowadzi do bardzo wyraźnego ograniczenia konieczności leczenia objawowego, co wynika naturalnie z poprawy stanu klinicznego chorych. Jednocześnie zmniejsza się w ten sposób obciążenie finansowe i psychiczne chorych oraz przywraca wolny czas poświęcany wcześniej częstym zabiegom pielęgnacyjnym i leczniczym. Co niezwykle istotne, obserwacje te dotyczą nie tylko okresu tuż po zakończeniu SITA, ale również kolejnych lat upływających od podania ostatniej szczepionki alergenowej.

5.3. Omówienie skuteczności immunoterapii swoistej u chorych na AZS na podstawie oceny jakości życia

Atopowe zapalenie skóry, jak wiele innych chorób dermatologicznych ma ogromny wpływ na dobrostan psychiczny pacjenta, jego codzienne życie oraz funkcjonowanie w społeczeństwie. Stąd w wielu badaniach naukowych fundamentalnym narzędziem do oceny skuteczności leczenia stała się ocena jakości życia, do której często stosowany jest kwestionariusz DLQI, również wykorzystany w niniejszej pracy. Średnia wartość DLQI przed rozpoczęciem leczenia w grupie badanych wynosiła 19,5 pkt i z czasem ulegała obniżeniu, uzyskując wynik 8,3 pkt po zakończeniu leczenia. Uzyskana poprawa jakości życia chorych, będąca wynikiem zastosowanego leczenia utrzymywała się na podobnym poziomie przez okres kolejnych lat po zakończeniu terapii, a w niektórych przypadkach ulegała nawet dalszej, stopniowej poprawie. Jakość życia chorych oceniona aktualnie, czyli po kilkuletniej obserwacji również w ocenie statystycznej była istotnie lepsza w porównaniu z okresem przed leczeniem, a co równie ważne, nie zmieniła się istotnie po zakończeniu terapii. A zatem jakość życia chorych na AZS, u których zdecydowano się podjąć leczenie szczepionkami alergenowymi poprawiła się nie tylko w perspektywie krótkoterminowej, ale utrzymywała się na lepszym poziomie przez kolejne lata. Jest to praktycznie efekt, którego zawsze poszukujemy i do którego dążymy proponując nowe opcje terapeutyczne. Oczywiście w przypadku chorego na AZS konieczne jest przewlekłe stosowanie miejscowej terapii emolientowej oraz stosowanie się do konkretnych zaleceń w zakresie „wczesnej interwencji" oraz „aktywnej profilaktyki" miejscowej, ale jak wynika z naszych obserwacji dla chorych nie stanowi to problemu i nie ma negatywnego wpływu na jakość ich życia.

Piśmiennictwo światowe w zakresie wpływu SITA na jakość życia chorych na AZS jest relatywnie „ubogie". W 2012 r. ukazała się praca Novak i wsp. dotycząca skuteczności SITA u chorych na AZS. Badanie przeprowadzone w warunkach podwójnie ślepej próby kontrolowanej placebo obejmowało 168 chorych na AZS z potwierdzoną alergią powietrznopochodną w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego. Średni czas trwania SITA wynosił 18 miesięcy. Po zakończeniu

leczenia jakość życia chorych oceniono za pomocą kwestionariusza DLQI. W przypadku chorych poddanych SITA jakość życia była o 36% wyższa w porównaniu do grupy kontrolnej. Średnie wartości DLQI wynosiły odpowiednio 5,7 pkt oraz 8,4 pkt, a różnica między nimi nie wykazywała istotności w analizach statystycznych ($p>0,05$) [Novak 2012].

Bae i wsp. dokonali przeglądu dotychczas ukazanych doniesień naukowych dotyczących krótkoterminowej skuteczności SITA u chorych na AZS [Bae 2013]. W wymieniowych pracach ocena jakości życia chorych podczas leczenia szczepionkami alergenowymi nie należała do kryteriów analizy skuteczności tej metody terapeutycznej. Jest to poniekąd dziwne, gdyż w praktyce klinicznej chodzi nam w ostatecznym podsumowaniu terapii o poprawę samopoczucia chorego. Jak wiadomo, nie zawsze parametry aktywności procesu chorobowego czy inne wskaźniki klinicznej oceny objawów podmiotowych i przedmiotowych pozostają w zgodności z tym jak czuje się pacjent i co ważne, czy czuje się lepiej w porównaniu z okresem przed leczeniem, które zastosowaliśmy.

Natomiast ocena jakości życia prowadzona w oparciu o kwestionariusz RQLQ (ang. Rhinoconjunctivitis quality of life questionnaire) uznana została za element odległej oceny skuteczności SITA u chorych na ANNS.

W 2010 r. Durham i wsp. podjęli próbę oceny skuteczności SITA w randomizowanym badaniu III fazy prowadzonym w warunkach próby podwójnie ślepej kontrolowanej placebo. W grupie 257 chorych na ANNS o umiarkowanym lub ciężkim przebiegu, u których potwierdzone zostało uczulenie IgE-zależne w zakresie alergenów pyłku traw rozpoczęto SLIT w schemacie przedsezonowym przez 3 lata. Ocenę jakości życia przeprowadzono po roku od zakończenia leczenia szczepionkami alergenowymi. W badaniu tym u chorych leczonych SLIT w porównaniu do grupy kontrolnej zarejestrowano istotną poprawę jakości życia w okresach pylenia, zarówno w trakcie leczenia jak i po roku od jego zakończenia. Średnia wartość RQLQ w grupie aktywnej po roku od zakończenia SLIT wynosiła 0,82 pkt, natomiast w grupie placebo 1,07 pkt. Zatem poprawa jakości życia była o 23% większa u chorych leczonych SLIT w porównaniu do grupy leczonej placebo po roku o zakończenia SLIT, a różnica ta była istotna statystycznie ($p=0,0041$) [Durham 2010].

W kolejnym projekcie badawczym Durham i wsp. przeprowadzili ocenę skuteczności SLIT po dwóch latach od zakończenia leczenia. SLIT prowadzono przez 3 lata w schemacie przedsezonowym w grupie 241 pacjentów chorych na ANNS uczulonych na alergeny pyłku traw. Po 2 latach obserwacji zarejestrowano ograniczenie liczby dni, w których u pacjentów występowały typowe objawy kliniczne, co bezpośrednio przekładało się na poprawę jakości życia chorych. Po dwóch latach od zakończenia leczenia średnia wartość RQLQ w grupie leczonej aktywnie wynosiła 1,1 pkt, natomiast w grupie chorych leczonych placebo 1,4 pkt. Zatem poprawa jakości życia u chorych leczonych SLIT była o 26% większa niż w grupie placebo i była statystycznie istotna (p=0,0047) [Durham 2012].

Z kolei w 2013 r. Didier i wsp. dokonali analizy porównawczej w zakresie RQLQ w przebiegu SLIT prowadzonej przez okres 3 lat. Po roku od zakończenia leczenia zdecydowanie większą poprawę w zakresie jakości życia (RQLQ) zaobserwowano w grupach leczonych aktywnie (RQLQ = 0,95 w grupie rozpoczynającej SLIT 4 miesiące przez sezonem pylenia; RQLQ = 0,86 w grupie rozpoczynającej SLIT 2 miesiące przez sezonem pylenia) w porównaniu do grupy placebo (RQLQ = 1,41). Różnica ta w ocenie statystycznej była nieistotna. Zdaniem badaczy powyższe wyniki mogą być nieco niedoszacowane w związku z wyższym zużyciem leków doraźnych w grupie placebo w porównaniu do grupy leczonej SLIT. Zatem można wnioskować, że w zakresie poprawy jakości życia chorych różnica pomiędzy SLIT a placebo jest jeszcze wyraźniejsza [Didier A 2013].

Podsumowując, zarówno wyniki badań własnych jak i obserwacje innych autorów wskazują na długotrwały, korzystny wpływ SITA na jakość życia pacjentów prezentujących objawy chorób wynikających między innymi z uczulenia na alergeny powietrznopochodne.

W niniejszej pracy przeprowadzono szczegółowa analizę poszczególnych aspektów życia chorych, które odzwierciadlają kolejne pytania kwestionariusza DLQI. Tak jak już wcześniej wspomniano, ze względu na brak doniesień o skuteczności SITA u chorych na AZS w odniesieniu do modulowania DLQI analiza porównawcza z wynikami innych badaczy w tym zakresie była niestety niemożliwa. Z kolei kwestionariusz RQLQ stosowany w oceny chorych na ANNS różni się treścią

(konstrukcja i treść zawarta w pytaniach), co wynika oczywiście ze zdecydowanie odmiennych charakterów obu schorzeń.

Analizując wyniki oceny jakości życia u chorych na AZS poddanych SITA istotną poprawę zarejestrowano w zakresie nasilenia świądu skóry, bolesności, pieczenia i uczucia mrowienia skóry. Dodatkowo istotna poprawa dotyczyła poczucia zakłopotania czy zażenowania stanem swojej skóry, negatywnego wpływu stanu dermatologicznego na wykonywanie codziennych czynności (robienie zakupów, wykonywanie prac domowych lub ogrodniczych), dobór ubioru, życie towarzyskie i spędzanie wolnego czasu. Co jest niezwykle ważne to fakt, ze poprawa jakości życia chorych stwierdzona po zakończeniu terapii utrzymywała się następnie na stałym poziomie przez kolejne lata okresu obserwacyjnego. Dotyczyło to wszystkich wymienionych powyżej aspektów jakości życia.

W przypadku ograniczającego wpływu stanu dermatologicznego na uprawianie sportu czy na kontakty z najbliższymi zauważono wyraźną, choć statystycznie nieistotną poprawę po zakończonej terapii w porównaniu ze stanem przed leczeniem. Taki stan utrzymywał się na podobnym poziomie przez kolejne lata prowadzonej obserwacji.

Natomiast w przypadku utrudnień w pracy lub nauce czy negatywnego wpływu problemu dermatologicznego na życie seksualne aktualnie nie zaobserwowano istotnej poprawy w porównaniu ze stanem zarówno sprzed jak i po zakończeniu leczenia. Czyli jakość życia pozostawała na stałym poziomie przed leczeniem, po zakończeniu oraz aktualnie.

5.4. Omówienie skuteczności immunoterapii swoistej u chorych na AZS na podstawie oceny wybranych parametrów alergologicznych

Jak dotychczas wpływ SITA na istotne w patomechanizmie AZS parametry immunologiczne i alergologiczne nie jest w pełni jasny i oceniony został tylko przez kilku badaczy. Oczywiście aby zrozumieć zachodzące zmiany w zakresie odpowiedzi immunologicznej w przebiegu tej metody terapeutycznej należy dokładnie przeanalizować sam mechanizm działania SITA w AZS, który został przybliżony we wstępie pracy, i jak wspomniano nie jest do końca jasny.

AZS jest chorobą, w przypadku której reakcje IgE-zależne jako odpowiedź na ekspozycję na określony alergen mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju i w zaostrzeniach stanu zapalnego skóry. Jak wiadomo reakcje IgE-zależne w odniesieniu do szerokiego panelu alergenów środowiskowych stanowią podstawową reakcję w alergicznych chorobach atopowych, takich jak ANN czy ANS. Stąd też szczególną uwagę poświęcono poziomowi IgE (cIgE, asIgE) w surowicy krwi chorych zarówno w kwalifikacji chorych do leczenia jak i określenia klinicznego efektu SITA. Zatem zastanawiano się, czy na podstawie wyjściowego poziomu wspomnianych przeciwciał w surowicy krwi chorych przewidzieć można skuteczność planowanej terapii, czyli czy surowicze poziomy asIgE można uznać za rodzaj biomarkerów. Doniesienia naukowe na ten temat nie są jednoznaczne, choć przeważa sugestia, że im wyższy wyjściowy poziom asIgE, tym większa szansa na uzyskanie lepszych rezultatów leczenia [Tosca 2014].

Rola przeciwciał IgE w monitorowaniu postępów leczenia SITA również nie jest jednoznaczna. Zwraca się uwagę, że po rozpoczęciu SITA poziomy asIgE początkowo wzrastają, ale z biegiem czasu obserwowane typowe, sezonowe wzrosty asIgE staja się mniej wyraźne. Równolegle procesowi temu towarzyszy wzrost przeciwciał asIgA oraz asIgG, głównie asIgG1 i asIgG4. Rolą asIgG4 jest blokowanie przyłączenia kompleksu alergen-IgE do limfocytów B oraz hamowanie uwalniania histaminy przez bazofile. Jak dotychczas potwierdzona została zależność pomiędzy wzrostem poziomów asIgG4 a kliniczną skutecznością SITA [Ott 2009; Hochfelder 2013]. Popularna jest też koncepcja, że efekt kliniczny SITA związany jest z

utrzymywaniem się podwyższonego poziomu surowiczych asIgG w surowicy krwi [Francis 2008; James 2011].

Doniesienia na temat zmian zachodzących w zakresie surowiczych poziomów IgE u chorych leczonych szczepionkami alergenowymi szczególnie w perspektywie długoterminowej są skąpe. Eng i wsp. dowodzi, że różnice w surowiczych poziomach asIgE w odniesieniu do alergenów pyłków traw pomiędzy grupą chorych leczonych SITA a grupą kontrolną nie różnią się między sobą zarówno po 6- jak i 12-letnim okresie obserwacyjnym po zakończeniu leczenia [Eng 2006].

W przeprowadzonym przez nas badaniu, ze statystycznego punktu widzenia, poziom surowiczego cIgE jak i asIgE pozostawał również na stałym poziomie począwszy od momentu rozpoczęcia SITA, poprzez moment zakończenia leczenia, aż do końcowego punktu czasowego okresu obserwacyjnego mieszczącego się w zakresie 2-12 lat.

Analizując średnie wartości poziomów cIgE zauważamy jednak, że wartości w trakcie (612,1 kU/l), tuż po SITA (669,1 kU/l) oraz aktualne (764,7 kU/l) pozostają na podobnym poziomie, który jest zdecydowanie niższy od średniej wartości wyjściowej, tj. przed leczeniem (2505,6 kU/l). Zaobserwowana ewidentna tendencja spadkowa nie osiągnęła jednak statystycznej istotności.

Podobnie kształtują się średnie poziomy asIgE w odniesieniu do alergenów pyłku życicy trwałej: przed, w trakcie SITA, po SITA oraz aktualnie: 183,1 kU/l, 35,7 kU/l, 12,5 kU/l, 53,1 kU/l; alergenów pyłku tymotki łąkowej odpowiednio 156,8 kU/l, 40,3 kU/l, 14,6 kU/l, 19,7 kU/l; jak i alergenów pyłku żyta zwyczajnego 138,9 kU/l, 29,4 kU/l, 13,9 kU/l, 17,9 kU/l.

W przypadku asIgE w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego (D. pteronyssinus – d1, D. farinae – d2) poziomy przeciwciał systematycznie spadały wraz z upływem czasu. Wysokie wyjściowe poziomy przeciwciał wynoszące średnio 86,5 kU/l (d1) oraz 98,0 kU/l (d2) obniżały się, aktualnie uzyskując najniższe wyniki, tj. 18,3 kU/l (d1) i 17,3 kU/l (d2). Natomiast różnice pomiędzy wynikami z poszczególnych okresów czasowych również pozostają statystycznie nieistotne.

Biorąc pod uwagę brak statystycznej istotności obserwowanego spadku surowiczego poziomu cIgE i asIgE na przestrzeni analizowanych okresów czasowych

oraz uwzględniając znaczenie wzrostu poziomu asIgG w przebiegu SITA, można przypuszczać, że poprawa kliniczna zarejestrowana w efekcie leczenia mogła wynikać z hamującego wpływu asIgG na przyłączenie kompleksów antygen-IgE do limfocytów B.

5.5. Omówienie skuteczności immunoterapii swoistej u chorych na AZS na podstawie oceny wybranych cytokin

Wydaje się, że kluczową rolę w wywoływaniu immunotoleracji w przebiegu SITA jest specyficzny wpływ na same alergenowo swoiste limfocyty T, co wiąże się z modulacją ich charakterystyki funkcjonalnej. Zmiana fenotypu limfocytów T z dominującego typu Th2 w kierunku Th1 zachodzi m.in. w efekcie działania IL-10. Ta tolerogenna cytokina działa supresyjnie w odniesieniu do Th2, w efekcie czego dochodzi do ograniczenia syntezy i uwalniania takich cytokin jak IL-4, IL-5, IL- 13, IL-9 . IL-10 hamuje również syntezę IgE i wzmaga produkcję IgG4 oraz IgA poprzez wpływ na limfocyty B. Hamuje też dojrzewanie i aktywność eozynofilów, bazofilów oraz komórek tucznych [Eifan 2011; Jutel 2001]. Sugeruje się, że IL-10 ma głównie wpływ na skuteczność SITA w początkowej fazie leczenia, natomiast w kolejnych okresach terapii kluczowe znaczenie zaczynają mieć inne już mechanizmy [Bohle 2007]. Oceniono skuteczność SLIT w korelacji ze zmianami zachodzącymi w zakresie surowiczego poziomu IL-10 w grupie chorych dzieci na ANN uczulonych na alergeny roztocza kurzu domowego. Po dwóch latach od zakończenia SLIT obserwowano spadek poziomu IL-10 przy jednoczasowej poprawie stanu klinicznego. Zatem limocyty Treg nie odgrywają istotnej roli po zakończeniu SITA [Moed 2013].

Podobnie można wnioskować na podstawie moich wyników. Wyjściowo, przed rozpoczęciem leczenia poziom IL-10 u chorych wynosił średnio 3,8 pg/ml. Po zakończeniu leczenia poziom tej cytokiny podniósł się, wynosząc średnio 8,7 pg/ml, nie osiągając jednak w tym wzroście statystycznej istotności. Aktualnie średni poziom IL-10 wynosił 0,1 pg/ml. A zatem aktualny wyraźnie obniżony surowiczy

poziom IL-10 i towarzyszący ewidentnie dobry stan kliniczny naszych pacjentów pozostają w logicznej zgodności, co moim zdaniem potwierdza to sugestię Moed z 2013r., że mechanizmy immunologiczne w długoterminowej perspektywie utrzymywania się dobrej skuteczności SITA zależne są od innych mechanizmów niż w fazie terapeutycznej, czyli podawania szczepionek alergenowych [Moed 2013].

Powracając do przesunięcia odpowiedzi immunologicznej Th2-zależnej w kierunku Th1 w przebiegu SITA należy wspomnieć, że już w 1999 r. Durham i wsp. opisywali, że utrzymująca się poprawa stanu klinicznego chorych po konwencjonalnym , podskórnym podawaniu szczepionek alergenowych w odniesieniu do alergenów pyłków traw jest związane z utrzymującą się supresją późnej fazy reakcji alergicznej wraz z zahamowaniem ekspresji mRNA cytokin o profilu Th2 [Durham 1999; Eifan 2011]. IL-4 produkowana głównie przez limfocyty Th2, jak również przez mastocyty i bazofile, pobudza limfocyty B do produkcji przeciwciał IgE oraz promuje rozwój limfocytów T w kierunku Th2. Natomiast druga analizowana interleukina o profilu Th2, jaką jest IL-5, reguluje dojrzewanie eozynofilów, mastocytów i bazofili. W efekcie SITA obserwuje się spadek surowiczych poziomów obu wspomnianych cytokin, co jest zresztą opisywane przez wielu badaczy [Moed 2013; Gogishvili 2007; Bohle 2007]. W efekcie dochodzi do wyraźnego ograniczenia syntezy przeciwciał IgE przez limfocyty B oraz supresji w sposób pośredni i bezpośredni eozynofilów, bazofilów i mastocytów [Akdis 2014]. W niniejszym badaniu średni, wyjściowy poziom IL-4 wynosił 22,0 pg/ml i stopniowo ulegał obniżeniu do 15,1 pg/ml tuż po zakończeniu SITA. Aktualny średni poziom IL-4 w surowicy krwi chorych kształtował się na poziomie 0,1 pg/ml i był istotnie statystycznie niższy w porównaniu do wyników wcześniejszych oznaczeń. W przypadku IL-5 początkowo uzyskano wynik 0,8 pg/ml, który następnie wzrósł do 2,3 pg/ml po zakończeniu leczenia szczepionkami alergenowymi. Aktualny średni poziom IL-5 wynosił 0,1 pg/ml i pomimo, że tendencja spadkowa była wyraźna, to nie miała statystycznej istotności. Powyższe wyniki wskazujące na tendencję spadkową zarówno IL-4 jak i IL-5 w długoterminowej obserwacji przemawiają za udziałem tego elementu w mechanizmie utrzymywania się poprawy stanu klinicznego u chorych na AZS po latach od zakończenia SITA.

Analizie poddano również parametry charakteryzujące odpowiedź typu Th1: IFN-γ oraz IL-2R. IFN-γ produkowany jest głównie przez limfocyty T oraz NK. IFN-γ

jest istotnym aktywatorem makrofagów, działa przeciwwirusowo, wykazuje działanie immunoregulujące oraz prozapalne. Zaobserwowano, że poziom IFN-γ w przebiegu SITA wzrasta [Durham 1996; Bohle 2007]. Ciprandi i wsp. w swojej krótkiej 3-miesięcznej obserwacji chorych na ANN leczonych SLIT zauważają, że wzrostowi IFN-γ towarzyszy redukcja objawów oraz zmniejszone zapotrzebowanie na leki [Ciprandi 2008]. W naszym badaniu początkowo poziom IFN-γ faktycznie wzrastał, gdyż przez rozpoczęciem SITA wynosił średnio 10,6 pg/ml, a po zakończeniu leczenia wzrósł do wartości 53,5 pg/ml. Jest to zgodne z obserwacjami innych badaczy [Cosdmi 2006, Jacobsen 2012, Fujita 2012]. Następnie poziom IFN-γ wykazywał tendencję spadkową, aktualnie uzyskując średni surowiczy poziom 0,1 (pg/ml). Znanymi czynnikami hamującymi syntezę IFN-γ są m.in. IL-4, IL-10, transformujący czynnik wzrostu β oraz glikokortykosteroidy [Chung 2001]. W naszym przypadku w przebiegu SITA zaobserwowaliśmy obniżenie surowiczego poziomu zarówno IL-4 jak i IL-10 (tej drugiej w późniejszej fazie obserwacji). Zatem obniżenie poziomu IFN-γ w surowicy krwi naszych pacjentów prezentujących zdecydowaną poprawę stanu klinicznego zarówno w przebiegu, jak i w obserwacji długoterminowej jest trudne do prostej interpretacji. Oczywiście oznaczana frakcja krążąca w surowicy krwi absolutnie nie odzwierciedla ekspresji IFN-γ w obrębie zmian skórnych, natomiast oceny takiej w zakresie niniejszego projektu niestety nie mogliśmy przeprowadzić. W piśmiennictwie z kolei nie znajduje się doniesień w tym zakresie praktycznie w odniesieniu do żadnych chorób z kręgu atopii, w przypadku których prowadzono SITA, a zatem w odniesieniu do długoterminowych obserwacji ekspresji IFN-γ w przebiegu tego typu terapii konieczne są naturalnie dalsze badania.

Kolejnym badanym parametrem oceniającym odpowiedź typu Th1 była IL-2R. Ta rozpuszczalna postać receptora dla IL-2 odzwierciedla aktywację komórek T *in vivo*. W różnorodnych chorobach zapalnych, u podłoża których leży dysregulacja komórek T obserwuje się podwyższony poziom IL-2R w surowicy krwi pacjentów. Tak więc uznaje się, że surowiczy poziom IL-2R odzwierciedla immunologiczną aktywację i proces zapalny w warunkach *in vivo* i stał się wartościowym markerem stosowanym w analizie aktywacji immunologicznej w przebiegu rozmaitych chorób rozwijających się na podłożu stanu zapalnego [Ohashi 1997]. Zwraca się uwagę, że u pacjentów dotkniętych chorobami z kręgu atopii surowiczy poziom IL-2R jest wyższy w porównaniu do populacji osób zdrowych [Matsumoto 1991]. W 1998 r.

Ohashi i wsp. przeprowadzili badanie oceniające odległą skuteczność SITA u chorych na ANN, w którym podkreśla się, że surowiczy poziom rozpuszczalnego IL-2R znacząco obniżył się po zakończeniu SITA i spadek ten korelował z poprawą stanu klinicznego chorych w pierwszym i trzecim roku leczenia. Takiej zależności nie obserwowano jednak po 5 i 10 latach od zakończenia terapii w porównaniu z momentem zakończenia SITA. Spadku surowiczego poziomu rozpuszczalnego IL-2R nie obserwowano natomiast w grupie kontrolnej na żadnym z badanych etapów prowadzonej obserwacji [Ohashi 1998]. Podobne wyniki uzyskaliśmy w przypadku naszych pacjentów chorych na AZS. Przed rozpoczęciem leczenia poziom surowiczego rozpuszczalnego IL-2R u chorych wynosił 2180,8 pg/ml, natomiast po zakończeniu SITA poziom ten obniżył się osiągając wartość 1584,4 pg/ml, natomiast zarejestrowana różnica nie była istotna statystycznie. Aktualny wynik stężenia sIL-2R kształtował się na poziomie 1152,8 pg/ml. Porównując aktualne wyniki stężeń sIL-2R z wynikami sprzed SITA zaobserwowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy uzyskanymi wartościami, natomiast różnica pomiędzy aktualnymi wynikami a oznaczonymi po zakończeniu SITA była nieistotna statystycznie. U badanych pacjentów systematyczny spadek surowiczego poziomu rozpuszczalnego IL-2R na każdym etapie towarzyszył poprawie stanu klinicznego pacjentów.

Ostatnim analizowanym parametrem immunologicznym w przebiegu leczenia, po zakończeniu SITA i w odległej obserwacji był surowiczy poziom ECP. Eozynofile pod wpływem wielu czynników, m.in. IL-3, IL-5 oraz GM-CSF, składników dopełniacza syntetyzują i uwalniają białka, do których zalicza się ECP. Dlatego też właśnie ECP jest uznawane za jeden z markerów aktywacji eozynofilów [Matusiewicz 2006].

Istnieje niewiele publikacji oceniających ekspresje surowiczą ECP w aspekcie skuteczność SITA. Jedną z nich jest praca Kim z 2010r., który ocenił dynamikę zmian w zakresie surowiczego poziomu ECP w grupie chorych na ANN uczulonych na alergeny roztocza kurzu domowego. Średni surowiczy poziom ECP po 12 miesiącach prowadzenia SLIT w porównaniu z wartością sprzed leczenia istotnie się obniżył. Spadek poziomu ECP w surowicy krwi chorych odzwierciadlający efekt przeciwzapalny prowadzonego SLIT korelował ze znaczącą poprawą stanu klinicznego chorych [Kim 2010].

Również Tahamiler w 2006r. oceniając skuteczność SLIT u chorych na ANN uczulonych na alergeny roztocza kurzu domowego uzyskał podobne wyniki, potwierdzając, że wraz z kontynuacją SLIT poziom ECP spada. Tendencja spadkowa ECP utrzymywała się nawet do dwóch lat po zakończeniu SLIT, co wskazuje na długotrwały wpływ SLIT na parametry immunologiczne [Tahamiler 2006].

W moich obserwacjach surowiczy poziom ECP także ulegał obniżeniu w przebiegu prowadzonego leczenia. Początkowo, przed rozpoczęciem SITA poziom ECP był relatywnie wysoki i wynosił średnio 41,7 µg/l. Następnie, tuż po zakończeniu terapii uległ nieistotnie statystycznemu obniżeniu do średniej wartości 29,5 µg/l. Z kolei po okresie obserwacyjnym wynoszącym 2-12 lat obniżył się aż do średniej wartości 0,1 µg/l, wykazując istotne statystycznie różnice w porównaniu do wartości sprzed jak i po SITA. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że w przebiegu SITA aktywność eozynofilii obniża się, czego konsekwencją jest zarejestrowany spadek surowiczego poziomu ECP. I co niezwykle istotne efekt ten utrzymuje się przez wiele lat po zakończeniu terapii.

5.6. Omówienie skuteczności swoistej immunoterapii alergenowej u chorych na AZS z uwzględnieniem ryzyka zachorowania na astmę oskrzelową oraz ryzyka rozwoju uczulenia w odniesieniu do innych alergenów środowiskowych

Związek pomiędzy ANNS a ryzykiem zachorowania na astmę oskrzelową podkreślany jest w wielu badaniach naukowych. U około 70% chorych na astmę oskrzelową współistnieje ANN, natomiast 20% chorych na ANNS zapada w przyszłości na astmę oskrzelową [Moller 2002]. W przypadku AZS wiadomo, że ryzyko rozwoju astmy oskrzelowej może sięgać aż 40%. Natomiast u chorych na alergiczny typ AZS, którzy otrzymują klasyczne leczenie ryzyko rozwoju astmy zmniejsza się o połowę [Wanat-Krzak 2004]. Dane dotyczące ryzyka rozwoju astmy oskrzelowej u chorych na AZS leczonych SITA nie są dostępne w literaturze.

W naszym badaniu obejmującym 15 chorych u 13,3% chorych (2/15 chorych) zdiagnozowano astmę oskrzelową przed rozpoczęciem SITA. U 15,4% chorych (2/13 chorych) astma rozwinęła się w trakcie SITA, tj. po roku i po 2 latach od

rozpoczęcia leczenia. U kolejnych 15,4% chorych (2/13 chorych) astma oskrzelowa rozwinęła się po zakończeniu SITA, odpowiednio po 6 i 7 latach od zakończenia leczenia. U jednego z tych pacjentów rozpoczęto SITA w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego w wieku 40 lat, natomiast u drugiego w odniesieniu do pyłków traw i zbóż w wieku 14 lat. Zatem ryzyko rozwoju astmy oskrzelowej u chorych poddanych SITA wynosiło 26,7% (4/15) i jest porównywalne z ryzykiem u chorych leczonymi klasycznie, natomiast ryzyko to jest wciąż niższe niż u chorych nieleczonych. Pozostała część badanej grupy licząca 9 chorych (9/13 chorych) stanowiąca 69,2% chorych pozostała bez objawów astmy oskrzelowej przez cały czas prowadzonej obserwacji.

W 2007 r. Jacobsen opisał długoterminowe ryzyko zachorowania na astmę oskrzelową u dzieci chorych na ANNS poddanych SITA. Badana grupa chorych obejmowała 206 osobową grupę chorych na ANNS prezentujących alergię powietrznopochodną w odniesieniu do alergenów pyłków brzozy i/lub pyłków traw, którzy leczeni byli SITA w schemacie przedsezonowym lub należeli do grupy kontrolnej. Leczenie prowadzono przez 3 lata, po którym chorzy pozostali pod 7-letnią obserwacją. Po tym okresie wykazano wyższą zapadalność na astmę oskrzelową w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy leczonej szczepionkami alergenowymi. I tak w grupie kontrolnej 24 dzieci spośród 53 rozwinęła astmę oskrzelową, natomiast w grupie leczonej SITA tylko 16 dzieci spośród 64. Zatem potwierdzono prewencyjną rolę SITA przed rozwojem astmy w przyszłości. Udowodniono również, że występowanie nadwrażliwości oskrzeli w dzieciństwie zwiększa ryzyko rozwoju astmy oskrzelowej w przyszłości [Jacobsen 2007].

W 2004 r. Novembre również potwierdził prewencyjny wpływ SLIT na rozwój astmy. W przeprowadzonym przez niego badaniu brało udział 113 chorych, z których 54 chorych przydzielono do grupy leczonej SLIT, a 59 chorych do grupy kontrolnej. SLIT prowadzone było w odniesieniu do alergenów pyłków traw w schemacie przedsezonowym przez 3 kolejne lata. Wykazano, że w pierwszym roku prowadzonego leczenia szczepionkami alergenowymi 6 chorych rozwinęło astmę, w drugim roku liczba ta wzrosła do 7, a po 3 latach liczba chorych na astmę zwiększyła się do 8. W grupie kontrolnej liczba chorych, u których rozpoznano astmę po roku, dwóch i trzech badania wynosiła odpowiednio 6, 16 i 18. Zatem po 3 latach SITA stwierdzono, że ryzyko rozwoju astmy w grupie kontrolnej było 3,8 razy wyższe niż w

grupie leczonej SITA. Zarejestrowano, że spośród wielu potencjalnych czynników wpływających na rozwój astmy (płeć, wiek, dodatni wywiad atopowy u rodzica, bierne palenie i obecność zwierząt w domu) najistotniejszą rolę ogrywa wiek. Młodszy wiek korelował z większym ryzykiem rozwoju astmy [Novembre 2004].

Korzystny wpływ SITA polega nie tylko na redukcji objawów chorobowych, profilaktyce rozwoju astmy oskrzelowej, ale również sugeruje się, że SITA stanowi prewencję przed rozwojem nowych uczuleń [Jacobsen 2007]. Wyniki przez nas uzyskane również potwierdzają te obserwacje. U 67% chorych (10/15) nie zarejestrowano rozwoju nowych IgE-zależnych uczuleń o znaczeniu klinicznym w okresie prowadzonej obserwacji. U pozostałych 33% chorych (5/15) zauważono rozwój IgE-zależnego uczulenia w odniesieniu do różnych, dodatkowych alergenów, w tym pleśni Alternaria (u 3 chorych), brzozy (u 2 chorych), roztocza kurzu domowego , sierści psa, sierści kota, bylicy (każdy alergen w jednym przypadku u innych chorych). W dwóch przypadkach ekspozycja na uczulające alergeny wywoływała zaostrzenie objawów AZS lub AZS i ANNS, u czterech chorych objawy związane były z ANN lub ANNS. Co warto podkreślić, w całej badanej grupie za główne rewelatory pogorszenia stanu dermatologicznego chorzy uznawali ekspozycję na czynniki drażniące (środki czystości, farby), stres oraz błędy pielęgnacyjne (brak nawilżania skóry, długie i gorące kąpiele). Świadczy to o równie istotnej roli innych czynników patogenetycznych w rozwoju zmian skórnych w przebiegu AZS. Biorąc pod uwagę długoterminowość prowadzonej przez nas obserwacji wynoszącej 2-12 lat oraz wyniki innych badań naukowych bogatszych o grupy kontrolne, można stwierdzić, iż uzyskane w niniejszej pracy wyniki świadczą o prewencyjnej roli SITA przed rozwojem nowych alergii IgE-zależnych.

Zapobiegawcza rola SITA przed rozwojem nowych uczuleń została zaobserwowano już w 1961 r. przez Johnstone. Wykazał on, że grupa chorych dzieci poddanych czteroletniej SITA nie wykazała rozwoju nowych uczuleń po zakończeniu leczenia w przeciwieństwie do grupy kontrolnej, w której odsetek ten sięgał 25% [Johnstone 1961].

Późniejsze doniesienia również potwierdziły te obserwacje. Badanie obejmujące 7182 pacjentów z monowalentną alergią powietrznopochodną i objawami ANN poddano 4-letniej SITA, a po zakończeniu leczenia chorzy pozostawali pod

obserwacją jeszcze przez kolejne 3 lata. Grupę kontrolną stanowiła grupa licząca 1214 chorych leczonych objawowo. Wykazano, że po 4 latach prowadzonego leczenia uczulenie na nowe alergeny powietrznopochodne rozwinęło się u 23,7% chorych poddanych SITA, w przeciwieństwie do grupy leczonej klasycznie, w której nowe alergie rozwinęły się u 68% chorych. Po kolejnych 3 latach okresu obserwacyjnego, tj. po 7 latach od rozpoczęcia leczenia, rozwój nowych alergii dotyczył 26,95% chorych leczonych SITA, a w grupie kontrolnej 76,77%. Różnice pomiędzy porównywanymi grupami na obu etapach obserwacji pozostawały istotne statystycznie ($p<0,0001$) [Purello-D' Amborsio 2001].

Innym istotnym doniesieniem naukowym jest badanie z 2001r. przeprowadzone przez Pajno na grupie 138 dzieci z alergią powietrznopochodną w odniesieniu do alergenów roztocza kurzu domowego oraz objawami ANN. Grupę obejmującą 75 dzieci poddano 3-letniej SITA, natomiast pozostała grupa 63 dzieci leczona była objawowo i stanowiła grupę kontrolną. Po upływie 3 letniego okresu obserwacyjnego od momentu zakończenia leczenia w grupie leczonej SITA 75,4% dzieci nie rozwinęło nowych alergii, natomiast w grupie kontrolnej odsetek ten wynosił jedynie 33,3%. Różnica ta była istotna statystycznie ($p<0,0002$) [Pajno 2001].

6. Wnioski

1. Prawidłowo prowadzona swoista immunoterapia alergenowa u chorych na atopowe zapalenie skóry prowadzi do poprawy jakości życia pacjentów i poprawa ta utrzymuje się na stałym poziomie nawet po 2-12 latach od zakończenia terapii.

2. Utrzymywanie się stałej poprawy jakości życia pacjentów leczonych szczepionkami alergenowymi dotyczy sfery życia towarzyskiego oraz komfortu życia codziennego .

3. Swoista immunoterapia alergenowa powoduje zarówno poprawę stanu dermatologicznego leczonych pacjentów, jak też redukcję świądu w trakcie stosowania szczepionek alergenowych oraz, co ważne, dalszą, systematyczną poprawę długoterminową po zakończeniu terapii.

4. W efekcie leczenia zapotrzebowanie na leki przeciwhistaminowe, miejscowe preparaty glikokortykosteoidowe i emolienty obniża się, a następnie przez kolejne lata pozostaje na stałym poziomie.

5. W odległej ocenie swoista immunoterapia alergenowa wpływa supresyjnie zarówno na odpowiedź typu Th2 (IL-4, IL-5, IL-10), jak i Th1 (IL-2R, INF-γ).

6. Wyrazem działania przeciwzapalnego swoistej immunoterapii alergenowej jest m.in. spadek surowiczego poziomu eozynofilowego białka kationowego.

7. Swoista immunoterapia alergenowa wykazuje prewencyjne działanie przed rozwojem astmy oraz nowych uczuleń na alergeny środowiskowe.

7. Streszczenie

Celem pracy była ocena odległej skuteczności SITA prowadzonej przy zastosowaniu szczepionek Novo-Helisen Depot u 15 chorych na AZS z potwierdzoną alergią powietrznopochodną na alergeny kurzu domowego oraz alergeny pyłków traw i zbóż o potwierdzonym znaczeniu klinicznym uczulenia. Aktualną ocenę skuteczności SITA przeprowadzono po okresie obserwacyjnym wynoszącym 2-12 lat od momentu zakończenia terapii. Wyniki porównano z danymi uzyskanymi przed rozpoczęciem leczenia jak również tuż po jego zakończeniu. Analizę przeprowadzono na podstawie wybranych parametrów klinicznych i laboratoryjnych, jakości życia oraz zapotrzebowania na leki. Ocena jakości życia przeprowadzona za pomocą kwestionariusza DLQI wykazała istotną jej poprawę w efekcie prowadzonej terapii, a co ważne uzyskana poprawa jakości życia utrzymywała się na stałym poziomie przez kolejne lata po zakończeniu SITA. Poprawa jakości życia chorych wynikała oczywiście z uzyskanej poprawy stanu klinicznego chorych . Co wydaje się niezwykle istotne to fakt stopniowego polepszania się stanu chorych przez kolejne lata, już po zakończeniu SITA. Wraz z upływem czasu redukcji ulegał również najtrudniejszy do opanowania objaw podmiotowy, a mianowicie świąd skóry. Jest to zatem utrwalony klinicznie sukces terapeutyczny. Zapotrzebowanie na leki przeciwhistaminowe, zużycie miejscowych preparatów glikokortykosteroidowych, jak również emolientów zmniejszyło się istotnie zarówno w trakcie terapii, i na przestrzeni kolejnych lat utrzymywało się na stałym, obniżonym poziomie. Wybrane do oceny surowicze parametry alergologiczne związane z uczuleniem IgE-zależnym (cIgE jak i asIgE) przez cały okres obserwacji chorych wykazywały tendencję do zmian, jednak nie były one istotne statystycznie i tendencje te zależne były od alergenowego charakteru uczulenia. Z kolei wybrane do analizy parametry immunologiczne potwierdziły długoterminową supresję odpowiedzi zarówno Th2 jak i Th1, gdyż stopniowemu obniżeniu uległy IL-4, IL-5, IL-10, IL-2R oraz INF-γ. Efekt przeciwzapalny SITA został potwierdzony poprzez spadek ECP. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że odległa ocena SITA u chorych na AZS jest niezaprzeczalnie optymistyczna, gdyż przede wszystkim powoduje poprawę jakości życia i stanu klinicznego, co jest najbardziej istotne dla samego chorego jak i lekarza. Stanowi to najważniejszy cel wszystkich podejmowanych terapii u chorych

na AZS. Oczywiście podkreślić należy zindywidualizowany charakter schematu terapeutycznego we wspomnianej jednostce chorobowej. Zatem SITA ma szansę skuteczności jedynie w przypadku pacjentów uczulonych na alergeny powietrznopochodne i uczulenie to musi mieć potwierdzone znaczenie kliniczne. W innych przypadkach wybór SITA jako podstawowego elementu całego schematu leczniczego mija się z celem. Dodatkowo analizując kwestię marszu atopowego, SITA jest praktycznie jedyną dostępną obecnie metodą modulująca naturalny przebieg chorób atopowych. W przypadku naszych pacjentów astma oskrzelowa rozwinęła się u dwóch chorych w przebiegu SITA oraz u dwóch chorych w okresie obserwacji , już po jej zakończeniu. 26,7% ryzyko rozwoju astmy oskrzelowej w naszym badaniu w porównaniu do 40% ryzyka u nieleczonych chorych świadczy o prewencyjnym dzianiu SITA w odniesieniu do astmy oskrzelowej u chorych na alergiczny typ AZS . W analizie profilu IgE-zależnego uczulenia po zakończeniu SITA oraz w obserwacjach odległych zaobserwowano zahamowanie tendencji do rozwoju uczulenia w odniesieniu do innych alergenów środowiskowych.

Reasumując, leczenie szczepionkami alergenowymi w przebiegu AZS powoduje poprawę stanu klinicznego chorych oraz redukcję świądu w trakcie prowadzonego leczenia, jak również dalszą, systematyczną poprawę pomimo zakończenia terapii. W efekcie jakość życia chorych poprawia się i utrzymuje na niezmiennym poziomie nawet przez okres 12 lat. Wskutek poprawy stanu klinicznego zapotrzebowanie na leki przeciwhistaminowe, miejscowe preparaty glikokortykosteroidowe oraz emolienty zmniejsza się, a po zakończeniu terapii pozostaje na stałym poziomie. Zaobserwowano prewencyjny wpływ leczenia szczepionkami alergenowymi przed rozwojem astmy oraz nowych uczuleń środowiskowych. W odległej ocenie SITA wykazuje działanie supresyjne na odpowiedź zarówno Th1 jak i Th2 oraz działa przeciwzapalnie, obniżając surowiczy poziom ECP. Zatem w wybranych przypadkach chorych na AZS z klinicznie istotnym uczuleniem na alergeny powietrznopochodne SITA charakteryzuje się długotrwałym efektem zarówno w zakresie poprawy stanu klinicznego jak i charakterystyki immunologicznej pacjentów.

8. Summary

The aim of the study was to evaluate the long-term efficacy of allergen specific immunotherapy performed with Novo-Helisen Depot allergy vaccines in the group of 15 atopic dermatitis patients with clinical significant allergy to house dust mites and grass pollen allergens. The actual allergen specific immunotherapy evaluation was performed after the observational period of 2-12 years after the end of the treatment. The results were compared to those before the treatment was introduced as well as to after its termination. The analysis was performed based on selected clinical and laboratory parameters, quality of life and need for medication. The quality of life evaluation based on DLQI questionnaire revealed an important quality of life improvement due to performed treatment and, what is important, the improved quality of life remained stable over years after the allergen specific immunotherapy was completed. The quality of life improvement was the result of clinical condition improvement. What seems to be extremely important is the fact of gradual improvement of patient condition over next years, after the termination of treatment. With time the most difficult to control subjective symptom, namely itching, was reduced. The use of antihistamine drugs, topical glicocorticosteroids as well as emollients was reduced during the treatment and it persisted on the constant, decreased level over the next years. Serum allergy parameters selected for evaluation associated with IgE-mediated allergy (total IgE and specific IgE) tended to change over the whole observational period, however, changes were not statistically significant, and these trends depended on the nature of the allergen sensitization. In turn immunological parameters selected for evaluation confirmed the long-term suppression of Th2 and Th1 response as IL-4, IL-5, IL-10, IL-2R and INF-γ gradually decreased. An anti-inflammatory effect of allergen specific immunotherapy was confirmed by ECP decrease. On the base of obtained results it is likely to state that the long-term efficacy of allergen specific immunotherapy in atopic dermatitis patients is undeniably optimistic, as it primarily improves quality of life and clinical condition what is the most essential point for patient and physician. This is the most important target of all therapies of atopic dermatitis. Of course, individualized treatment schedule should be emphasized in the said disease entity. Therefore allergen specific immunotherapy can be effective only in case of patients with airborne allergy

with confirmed clinical significance. In other cases, the choice of allergen specific immunotherapy as the basic element of therapeutic schedule is pointless. Furthermore, analyzing the question of atopic march, allergen specific immunotherapy is now practically the only available method modulating the natural course of atopic diseases. In case of our trial, two patients developed asthma in the course of allergen specific immunotherapy, while two others in an observational period, after the treatment. The risk of asthma of 26,7% in our study comparing to 40% in untreated patients demonstrates the preventive effect of allergen specific immunotherapy on asthma in allergic type atopic dermatitis patients. The analysis of IgE-mediated allergy profile after the termination of allergen specific immunotherapy and the long-term analysis showed the decreased trend to develop new environmental allergies.

In conclusion specific allergen immunotherapy in atopic dermatitis patients leads to clinical improvement and itch reduction in course of treatment, as well as to further, gradual improvement even after completing the treatment. This results in the quality of life improvement which remains improved for the long observational time period of 12 years. As a result of clinical improvement the requirement for antihistaminics, topical glucocorticosteroids and emollients is reduced and remains stable after completing the therapy. The preventive effects of SITA in terms of development of asthma and sensitization to new environmental allergens were observed. The long-term efficacy of allergen specific immunotherapy shows the suppression of both Th1 and Th2 response and an anti-inflammatory effect by reducing serum level of ECP. Therefore SITA seems to have a long-lasting clinical and immunological effects in patients with AD and airborne allergy.

9. Załączniki

Załącznik nr 1 – zgoda Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 52/12

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 1997, Nr 28, poz. 152); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz.480); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych wymagań Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2005, Nr 57, poz. 500); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1168); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 4 listopada 2008r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. Nr 201, poz. 1247), kierując się Zasadami Prawidłowego Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: **05 stycznia 2012 r.**

rozpatrzyła wniosek, który przedstawiła Pani:

prof. dr hab. Magdalena Czarnecka- Operacz

w sprawie prowadzenia badań w

Oddziale Klinicznym Dermatologii Szpitala Klinicznego UM w Poznaniu

Główny badacz: **lek. med. Nina Wyrzykowska**

Temat badań: **"Odległa ocena skuteczności alergenowej immunoterapii swoistej u chorych na atopowe zapalenie skóry".**

Komisja wyraża zgodę na prowadzenie badań

Przewodniczący Komisji

Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

10. Piśmiennictwo

Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. J Allergy Clin Immunol., 2011, 127(1): 18-27.

Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: Multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. J Allergy Clin Immunol., 2014, 133(3): 621-31.

Akdis M. New treatments for allergen immunotherapy. World Allergy Organ J., 2014, 7(1): 23.

Allam JP, Novak N. the pathophysiology of atopic eczema. Clin Exp Dermatol., 2006, 31(1): 89-93.

Alvarez-Cuesta E, Bousquet J, Canonica GW et al. Standards for practical allergen-specific immunotherapy. Allergy, 2006, 61(suppl.82): 1-20.

Bae JM, Choi YY, Park CO et al. Efficacy of allergen-specific immunotherapy for atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J Allergy Clin Immunol., 2013, 132(1): 110-7.

Beck LA, Thaci D, Hamilton JD et al. Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. N Engl J Med., 2014, 371: 130–9.

Bieber T. Atopic dermatitis. Ann Dermatol., 2010, 22(2): 125-37.

Boguniewicz M, Leung DY. Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. Immunol Rev., 2011, 242(1): 233-46.

Bohle B, Kinaciyan T, Gerstmayr M et al. Sublingual immunotherapy induces IL-10–producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance and immune deviation. J Allergy Clin. Immunol., 2007, 120(3): 707-13.

Bradley M, Söderhäll C, Luthmann H et al. Susceptibility loci for atopic dermatitis on chromosomes 3, 13, 15, 17 and 18 in a Swedish population. Hum Mol Genet., 2002, 11: 1539-1548.

Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. J Clin Cell Immunol., 2011, 2(3): 110.

Calamita Z, Potthast SB. Immunotherapy in Alergies: An Update. Inflammation & Allergy - Drug Targets, 2013, 12(1): 12-18.

Calderón MA, Larenas D, Kleine-Tebbe J et al. European Academy of Allergy and Clinical Immunology task force report on 'dose–response relationship in allergen-specific immunotherapy. Allergy, 2011, 66: 1345–1359.

Ciprandi G, Fenoglio D, Di Gioacchino M et al. Sublingual immunotherapy provides an early increase of interferon-gamma production. J Biol Regul Homeost Agents, 2008, 22(3): 169-73.

Chałubiński M, Kowalski ML. Mechanizmy regulacji syntezy immunoglobuliny E. Alergia Astma Immunologia, 2009, 14(1): 20-26.

Chomiczewska D, Trznadel-Budźko E, Kaczorowska A et al. Znaczenie komórek Langerhansa w układzie immunologicznym skóry. Pol. Merk. Lek., 2009, XXVI,153: 173-177.

Chung F. Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-γ. Mediators Inflamm., 2001, 10(2): 51–59.

Compalati E, Roqkakou A, Passalacqua G et al. Evidences of efficacy of allergen immunotherapy in atopic dermatitis: an updated review. Curr Opin Allergy Clin Immunol., 2012: 427-33.

Cosmi L, Santarlasci V, Angeli R et al. Sublingual immunotherapy with Dermatophagoides monomeric allergoid down-regulates allergen-specific immunoglobulin E and increases both interferon-gamma- and interleukin-10-production. Clin Exp Allergy., 2006, 36(3): 261-72.

Czarnecka-Operacz M, Jenerowicz D. Topical calcineurin inhibitors in the treatment of atopic dermatitis - an update on safety issues. J Dtsch Dermatol Ges., 2012, 10(3): 167-72.

Czarnecka-Operacz M, Silny W. Specific immunotherapy in atopic dermatitis: four-year treatment in different age and airborne allergy type subgroups. Acta Dermatovenerol. Croat., 2006, 14: 230–240.

Didier A, Malling HJ, Worm M et al. Post-treatment efficacy of discontinuous treatment with 300IR 5-grass pollen sublingual tablet in adults with grass pollen-induced allergic rhinoconjunctivitis. Clin Exp Allergy., 2013, 43(5): 568-77.

Durham SR, Emminger W, Kapp A et al. Long-term clinical efficacy in grass pollen–induced rhinoconjunctivitis after treatment with SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet. J Allergy Clin Immunol., 2010, 125(1): 131-8.

Durham SR, Emminger W, Kapp A et al. SQ-standarized sublingual grass immunotherapy: Confirmation of disease modification 2 years after 3 years of treatment in a randomized triR 5-grass pollen sublingual tablet in adults with grass pollen-induced allergic rhinoconjunctivitis. J Allergy Clin Immunol., 2012, 129: 717-25.

Durham SR, Walker SM, Varga EM et al. Long-term clinical efficacy of grasspollen immunotherapy. N Engl J Med., 1999, 341: 468–475.

Durham SR, Ying S, Varney VA et al. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma. J Allergy Clin Immunol., 1996, 97: 1356-1365.

Eifan AO, Shamji MH, Durham SR. Long-term clinical and immunological effects of allergen immunotherapy. Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology, 2011, 11: 586–593.

Eng PA, Borer-Reinhold M, Heijnen IA et al. Twelve-year follow-up after discontinuation of preseasonal grass pollen immunotherapy in childhood. Allergy, 2006, 61: 198-201.

Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI): a simple practical measure for routine clinical use. Clin Exp Dermatol., 1994, 19: 210-216.

Francis JN, James LK, Paraskevopoulos G. Grass pollen immunotherapy: IL-10 induction and suppression of late responses precedes IgG4 inhibitory antibody activity. J Allergy Clin Immunol., 2008, 121(5): 1120-1125.

Fujita H, Soyka MB, Akdis CA et al. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. Clinical and Translational Allergy, 2012, 2: 2.

Gawlik R, Rogala B, Rogala E. Całoroczna i przedsezonowa immunoterapia swoista sezonowego alergicznego nieżytu nosa. Alergia Astma Immunologia, 1997, 2: 39-42.

Gliński W. Atopowe zapalenie skóry. Przew Lek., 2000, 3, 28-31.

Gliński W, Kruszewski J, Silny W, et al. Postępowanie diagnostyczno-profilaktyczno-lecznicze w atopowym zapaleniu skóry. Konsensus grupy roboczej specjalistów krajowych ds. Dermatologii i wenerologii oraz Alergologii. Pol.Merkur.Lek., 2004, T.17 supl. 3; 3-15.

Gogishvili T, Hahn C, Meinhard J et al. Inhibition of IL-4/IL-13 Does Not Enhance the Efficacy of Allergen Immunotherapy in Murine Allergic Airway Inflammation. Int Arch Allergy Immunol., 2007, 142: 165–174.

Gschwandtner M, Mildner M, Mlitz V et al. Histamine suppresses epidermal keratinocyte differentiation and impairs skin barrier function in a human skin model. Allergy., 2013, 68(1): 37-47.

Harskamp CT, Armstrong AW. Immunology of Atopic Dermatitis: Novel Insights into Mechanisms and Immunomodulatory Therapies. Semin Cutan Med Surg., 2013, 32: 132–139.

Hawro T, Sysa-Jędrzejowska A., Narbutt J. Rola mutacji w genie filagryny w etiopatogenezie atopowego zapalenia skóry. Przegląd piśmiennictwa. Post Dermatol. Alergol., 2008, XXV, 1: 12–15.

Hochfelder JL, Ponda P. Allergen immunotherapy: routes, safety,efficacy, and mode of action. ImmunoTargets and Therapy, 2013, 2: 61-71.

Hong CH, Yu HS, Ko YC et al. Functional regulation of interleukin-31 production by its genetic polymorphism in patients with extrinsic atopic dermatitis. Acta Derm Venereol., 2012, 92(4): 430-2.

Hotze M, Baurecht H, Rodriguez E et al. Increased efficacy of omalizumab in atopic dermatitis patients with wild-type filaggrin status and higher serum levels of phosphatidylcholines. Allergy., 2014, 69(1): 132-5.

Jacobsen L, Valovirta E. How Strong is the Evidence That Immunotherapy in Children Prevents the Progression of Allergy and Asthma? Curr Opin Allergy Clin Immunol., 2007, 7(6): 556-560.

Jacobsen L, Wahn U, Bilo MB. Allergen-specific immunotherapy provides immediate, long-term and preventive clinical effects in children and adults: the effects of immunotherapy can be categorised by level of benefit -the centenary of allergen specific subcutaneous immunotherapy. Clin Transl Allergy., 2012, 2: 8.

James LK, Shamji MH, Walker SM et al. Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. J Allergy Clin Immunol., 2011, 127: 509-516.

Ji-In Y. Weon-Cheol H, Ki-Jung Y et al. Identifying Polymorphisms in *IL-31* and Their Association with Susceptibility to Asthma. Korean J Pathol., 2012, 46(2): 162–168.

Johnstone DE, Crump L. Value of hyposensitization therapy for perennial bronchial asthma in children. Pediatrics, 1961, 61: 39-44.

Jutel M, Małolepszy J. Mechanizmy immunoterapii swoistej. Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1): 7-11.

Jutel M, Solarewicz-Madejek K, Smolińska S. Limfocyty Th17 w alergii i astmie. Alergia Astma Immunologia, 2012, 17(4): 165-171.

Kim ST, Han DH, Moon IJ et al. Clinical and immunologic effects of sublingual immunotherapy on patients with allergic rhinitis to house-dust mites: 1-year follow-up results. Am J Rhinol Allergy., 2010, 24(4): 271-5.

Kiyohara C, Tanaka K, Miyake Y. Genetic Susceptibility to Atopic Dermatitis. Allergol Int., 2008, 57(1): 39-56.

Kowal A, Barg W. Pacjent atopowy – dlaczego i kiedy odczulać? Family Med. Prim. Care Rev., 2009, 11(4): 923-929.

Lacombe Barrios J, Begin P, Paradis L et al. Anti-IgE therapy and severe atopic dermatitis: a pediatric perspective.J Am Acad Dermatol., 2013, 69(5): 832-4.

Lasek W. Immunoterapia alergenowa - mechanizmy indukcji tolerancji na alergen. Immunoterapia alergenowa - mechanizmy indukcji tolerancji na alergen. Alergia, 2013, 1: 31-34.

Lee J, Noh G, Lee S et al. Atopic dermatitis and cytokines: recent patents in immunoregulatory and therapeutic implications of cytokines in atopic dermatitis--part I: cytokines in atopic dermatitis. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov., 2012, 6(3): 222-47.

Maggi E. T cell responses induced by allergen-specific immunotherapy Clin Exp Immunol., 2010, 161(1): 10–18.

Makatsori M, Pfaar O, Lleonart R, Calderon MA. Recombinant allergen immunotherapy: clinical evidence of efficacy--a review. Curr Allergy Asthma Rep., 2013, 13(4): 371-8.

Marogna M, Spadolini I, Massolo A et al. Long-lasting effects of sublingual immunotherapy according to its duration: A 15-year prospective study. J Allergy ClinI Immunol., 2010, 126: 969-75.

Matsumoto T, Miike T, Yamaguchi K et al. Serum levels of soluble IL-2 receptor, IL-4 and IgE-binding factors in childhood allergic diseases. Clin Exp Immunol., 1991; 85: 288–92.

Matusiewicz K, Mowszet B, Iwańczak I et al. Eosinophilic Cationic Protein – Its Role in Pathophysiology and Diagnostics. Adv Clin Exp Med., 2006, 15, 4, 683–688.

Moed H, van Wijk RG, Hendriks RW et al. Evaluation of Clinical and Immunological Responses: A 2-Year Follow-Up Study in Children with Allergic Rhinitis due to House Dust Mite. Mediators Inflamm., 2013, 2013: 345217.

Moller C, Dreborg S, Ferdousi HA et al. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjuctivitis (the PAT-Study). The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2002, 109: 251–256 .

Novak N, Bieber T, Hoffmann M et al. Efficacy and safety of subcutaneous allergen-specific immunotherapy with depigmented polymerized mite extract in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol., 2012, 130(4): 925-31.

Novak N, Bieber T, Leung D. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol., 2003, 112: 128-139.

Novak N, Valenta R, Bohle B et al. FcεRI engagement of Langerhans cells-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes in vitro. J Allergy Clin Immunol., 2004, 113: 94-7.

Novembre E, Galli E, Landi F. Coseasonal sublingual immunotherapy reduces the development of asthma in children with allergic rhinoconjunctivitis. J Allergy Clin Immunol., 2004, 114(4): 851-7.

Ohashi Y, Nakai Y, Tanaka A et al. Ten-Year Follow-Up Study of Allergen-Specific Immunoglobulin E and Immunoglobulin G4, Soluble Interleukin-2 Receptor, Interleukin-4, Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 and Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Serum of Patients on Immunotherapy for Perennial Allergic Rhinitis. Scand. J. Immunol., 1998, 47: 167–178.

Ohsawa Y, Hirasawa N. The Role of Histamine H1 and H4 Receptors in Atopic Dermatitis: From Basic Research to Clinical Study. Allergol Int., 2014, 63(4): 533-42.

Osmola A, Czarnecka-Operacz M, Silny W. Genetic aspects of atopy and atopic dermatitis. Acta Dermatovenerol Croat., 2005, 13(2): 122-6.

Ott H, Sieber J, Brehler R et al. Efficacy of grass pollen sublingual immunotherapy for three consecutive seasons and after cessation of treatment: the ECRIT study. Allergy, 2009, 64: 1394–1401.

Pajno GB, Barberio G, De Luca F et al. Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. Clin Exp Allergy, 2001, 31: 1392-97.

Pajno GB, Caminiti L, Vita D et al. Sublingual immunotherapy in mitesensitized children with atopic dermatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. J Allergy Clin Immunol., 2007, 120(1): 164-70.

Polasik K, Placek W, Romańska-Gocka K. Rola komórek Langerhansa w immunopatogenezie atopowego zapalenia skóry. Przegl Dermatol., 2010, 97: 303–312.

Purello-D'Ambrosio F, Gangemi S, Merendino RA et al. Prevention of new sensitizations in monsensitized subjects submitted to specific immunotherapy or not. A retrospective study. Clin Exp Allergy, 2001, 31: 1295-302.

Rahman S, Collins M, Williams CM et al. The Pathology and Immunology of Atopic Dermatitis. Inflamm Allergy Drug Targets., 2011, 10(6): 486-96.

Ring J, Gutermuth J. 100 years of hyposensitization: history of allergen-specific immunotherapy (ASIT). Allergy, 2011, 66(6): 713-24.

Ring S, Schäfer SC, Mahnke K. CD4+ CD25+ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions by blocking influx of effector T cells into inflamed tissue. Eur J Immunol., 2006, 36(11): 2981-92.

Rutkowski R, Rutkowski K, Stachurski Ł. Szczepionki alergenowe – możliwość poprawy bezpieczeństwa. Allergy vaccines – chances to improve safety. Alergia Astma Immunologia, 2007, 12(2): 73-80.

Schultz Larsen F. Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. J. Am. Acad. Dermatol., 1993, 28: 719-723.

Senti G, Prinz Vavricka BM, Erdmann I et al. Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: a randomized controlled trial. Proc Natl Acad Sci U S A., 2008, 105(46): 17908-12.

Shi H, Wang X, Ren H, Zhuang Y. Effect analysis of the dust mite allergenspecific, immunotherapy of chronic eczema. Chin J Derm Venereol., 2010, 24: 424–426.

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.

Silny W, Czarnecka-Operacz M, Gołębka E et al. Punktowy wskaźnik oceny stanu klinicznego chorych na atopowe zapalenie skóry. Przegl Dermatol., 1999, 86: 215-222.

Silny W, Czarnecka-Operacz M. Specific immunotherapy in the treatment of patients with atopic dermatitis. Results of a double-blind, placebo-controlled study. Allergologie, 2006, 29: 171-183.

Soyer OU, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of Subcutaneous Allergen Immunotherapy. Immunol Allergy Clin North Am., 2011, 31(2): 175-90.

Steiner L, Engel T, Nöding A et al. Description of Long Term Outcome of Sublingual Immunotherapy Treatment in Children: A Follow-Up Observation Through Phone Interviews. The Open Allergy Journal., 2009, 2: 30-37.

Szczepankiewicz A. Podłoże genetyczne atopowego zapalenia skóry. Alergia, 2013, 2: 53-54.

Tahamiler R, Yener M, Canakçioğlu S. The use of serum and nasal eosinophilic cationic protein in the evaluation of the effectiveness of immunotherapy in patients with allergic rhinitis. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg., 2006, 16(4): 155-9.

Tosca M, Sivestri M, Accogli A et al. Serum-specific IgE and Allergen Immunotherapy in Allergic Children. Immunotherapy, 2014, 6(1): 29-33.

Valenta R, Linhart B, Swoboda I et al. Recombinant allergens for allergen-specific immunotherapy: 10 years anniversary of immunotherapy with recombinant allergens. Allergy. 2011, 66(6): 775-83.

Wanat-Krzak M, Kurzawa R. Atopowe zapalenie skóry – pierwsza manifestacja kliniczna choroby alergicznej. Terapia, Volume, 2004, 11: 47-56.

Weber TM, Samarin F, Babcock MJ et al. Steroid-Free Over-the-Counter Eczema Skin Care Formulations Reduce Risk of Flare, Prolong Time to Flare, and Reduce Eczema Symptoms in Pediatric Subjects With Atopic Dermatitis. J Drugs Dermatol., 2015, 14(5): 478-85.

Werfel T. The Role of Leukocytes, Keratinocytes, and Allergen-Specific IgE in the Development of Atopic Dermatitis. J Invest Dermatol., 2009, 129(8): 1878-91.

Wöhrl S, Kinaciyan T, Jalili A et al. Malignancy and specific allergen immunotherapy: the results of a case series. Int Arch Allergy Immunol., 2011, 156(3): 313-9.

Zheng J. Clinical study on sublingual immunotherapy for allergens of children with atopic, dermatitis. Hebei Med., 2011, 17: 149–150.