

PRACE ORYGINALNE

Joanna Glück, Barbara Rymarczyk, Barbara Rogala

Zwiększone stężenie chemokiny CCL3/MIP-1 alfa w ciężkiej astmie oskrzelowej

Increased chemokine CCL3/MIP-1 alpha serum level in severe bronchial asthma

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Alergologii i Immunologii Klinicznej
Śląski Uniwersytet Medyczny

STRESZCZENIE

Wstęp: Astma oskrzelowa jest chorobą przewlekłą o podłożu zapalnym, w której uczestniczy wiele komórek, w tym limfocyty typu Th2. Wykazano jednak, że w niektórych fenotypach astmy, szczególnie w astmie ciężkiej stwierdza się udział limfocytów o profilu Th1. Dane dotyczące roli chemokiny związanej z profilem Th1 - CCL3/MIP-1 alfa w astmie oskrzelowej są niejednoznaczne.

Celem pracy była ocena zależności między stężeniem CCL3/MIP-1 alfa w surowicy chorych na astmę oskrzelową a stopniem zaawansowania choroby.

Materiał i metoda: Badaniem objęto 27 osób chorych na astmę oskrzelową, w tym 14 na astmę lekką lub umiarkowaną i 13 chorych na astmę ciężką oraz 22 osoby w grupie kontrolnej. W badanych grupach oceniono stężenie CCL3/MIP-1 alfa oraz całkowite stężenie IgE w surowicy.

Wyniki i wnioski: Wartości stężeń CCL3/MIP-1 alfa były znacznie większe w grupie chorych na astmę ciężką niż w grupie chorych na astmę lekką lub umiarkowaną ($p=0,02$) i w grupie kontrolnej ($p=0,001$). Nie stwierdzono istotnych korelacji między stężeniem CCL3/MIP-1 alfa a wiekiem, czasem trwania astmy i całkowitym stężeniem IgE. Zwiększone stężenie CCL3/MIP-1 alfa wskazuje na znaczenie odpowiedzi Th1 w patofizjologii przewlekłej ciężkiej astmy oskrzelowej.

Słowa kluczowe: chemokiny, ciężka astma oskrzelowa, patofizjologia astmy, limfocyty Th1, limfocyty Th2

ABSTRACT

Bronchial asthma is a chronic inflammatory disease with the dominant role of type 2 T helper cells. In some asthma phenotypes, particularly in severe bronchial asthma, type 1 T helper cells may participate. Data on the role of CCL3/MIP-1 alpha, that is the type 1 chemokine, in the chronic asthma are divergent.

The aim of the study was to assess the relationship between the serum level of CCL3/MIP-1 alpha in asthmatics and the stage of the disease. 27 patients with chronic asthma, including 14 patients with mild-to-moderate asthma and 13 patients with severe asthma, and 22 controls were included into the study. Serum level of CCL3/MIP-1 alpha and total IgE level were measured.

Results and conclusion: CCL3/MIP-1 alpha levels were significantly higher in severe asthmatics than in mild-to-moderate asthma patients ($p=0.02$) and in the controls ($p=0.001$). There were no correlations between level of CCL3/MIP-1 alpha and age, asthma duration and total IgE level. Increased serum CCL3/MIP-1 alpha level may indicate the significance of Th1 response in the pathophysiology of chronic severe bronchial asthma.

Key words: chemokines, severe bronchial asthma, type 1 T cells, type 2 T cells

Chemokiny to zasadowe białka o małej masie cząsteczkowej, dużej aktywności biologicznej i charakterystycznej strukturze chemicznej. Chemokiny mają działanie wielokierunkowe, wpływając na rozwój, różnicowanie, przeżywalność i chemotaksję komórek fazy aferentnej i efektorowej zapalenia. Uczestniczą także w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych, jak powstawanie i hamowanie tworzenia nowych naczyń, hemo- i limfopoza, procesy nowotworzenia czy gojenie się ran [1].

Na podstawie budowy strukturalnej cząsteczek chemokin, z uwzględnieniem także różnic w początkowej sekwencji aminokwasów, wyróżnia się cztery podgrupy chemokin: CXC, CC, C i CX₃C, które różnią się profilem aktywności i powinowactwem do odmiennych receptorów znajdujących się na różnych komórkach. CC chemokiny oddziałują w szczególny sposób na limfocyty i monocyty, a także eozynofile, pobudzając ich chemotaksję i aktywność. Dlatego uważa się, że właśnie te chemokiny odgrywają istotną rolę w patogenezie chorób alergicznych. Do grupy tej należy szereg różnych białek, spośród nich niektóre chemokiny, np. CCL17 / TARC (chemokina regulowana przez grasicę i aktywację; *thymus- and activation- regulated chemokine*) i CCL22 / MDC (chemokina pochodząca z monocytów; *monocyte-derived chemokines*) związane są z odpowiedzią typu Th2, a CCL3 / MIP-1 alfa (*macrophage inflammatory protein-1*, białko zapalne makrofagów-1 alfa), CCL4 / MIP-1 beta (*macrophage inflammatory protein-1*, białko zapalne makrofagów-1 beta) z odpowiedzią typu Th1 [2–4].

Astma oskrzelowa jest chorobą przewlekłą o podłożu zapalnym, w której uczestniczy wiele komórek i substancji przez nie wytwarzanych [5]. Szczególne znaczenie przypisuje się eozynofilom i limfocytom typu Th2, które wydzielają IL-4, IL-5, IL-13. Wykazano jednak, że w niektórych fenotypach astmy, szczególnie w astmie ciężkiej stwierdza się udział limfocytów o profilu Th1.

Dane dotyczące roli chemokiny związanej z profilem Th1 - CCL3/MIP-1 alfa w astmie oskrzelowej są niejednoznaczne, szczególnie w odniesieniu do stopnia nasilenia choroby. Wykazano, że w łagodnej astmie oskrzelowej zdolność obwodowych limfocytów T do syntetyzowania CCL3/MIP-1 alfa i CCL4/MIP-1 beta jest zmniejszona, natomiast u chorych w stanie astmatycznym stwierdzono większe stężenie CCL3/MIP-1 alfa w popłuczynach oskrzelowych [6, 7]. Zwiększone stężenia CCL3/MIP-1 alfa wykazano również w kondensacie powietrza wydechowego u dzieci chorych na astmę [8]. U chorych z ciężkim zaostrzeniem astmy oskrzelowej wymagającym hospitalizacji i stosowania steroidów systemowo obserwowano niezmiennione stężenia CCL3/MIP-1 alfa w surowicy (obserwacje własne).

Dlatego postanowiono ocenić, czy stężenie CCL3/MIP-1 alfa, CC chemokiny związanej z odpowiedzią w Th1, w surowicy chorych na astmę oskrzelową zależy od stopnia nasilenia astmy.

Chemokines are alkaline proteins with small molecule mass, big biological activity and characteristic chemical structure. Chemokines have multidirectional effect, they influence the growth, differentiation, survivability and chemotaxis of afferent and effector phase cells of inflammation. They also take part in different physiological and pathological processes, such as generation and restraining of new vessels formation, hemo- and lymphopoiesis, processes of carcinogenesis or wounds healing. [1]

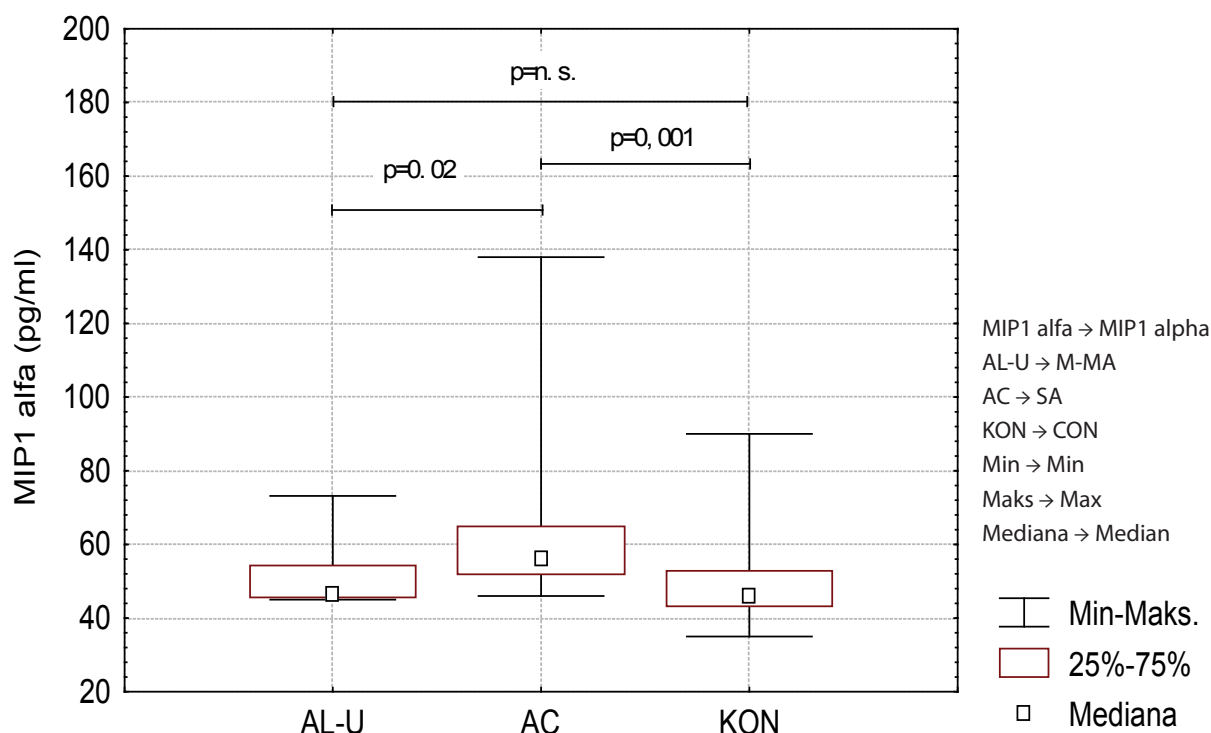
On the basis of the structural constitution of chemokine cells, taking into consideration the differences in the initial sequence of aminoacids, the four subgroups of chemokines are distinguished: CXC, CC, C and CX₃C, which differ in the activity profile and affinity to dissimilar receptors which can be found in different cells. CC chemokines have special effect on lymphocytes and monocytes and also on eosinophiles, inducing their chemotaxis and activity. That is why exactly chemokines are considered to play important role in the pathogenesis of allergic diseases. A number of different proteins belongs to this group, among which some chemokines e.g., CCL17 /TARC (thymus- and activation- regulated chemokine) and CCL22 /MDC (monocyte-derived chemokines) are connected with the Th2 response, and CCL3 /MIP-1 alpha (macrophage inflammatory protein-1), CCL4 /MIP-1 beta (macrophage inflammatory protein-1) are connected with the Th1 response [2–4].

Bronchial asthma is a chronic inflammatory disease in which many cells and substances produced by them take part. [5] Special meaning is ascribed to eosinophiles and lymphocytes of type 2 T helper, which induce IL-4, IL-5, IL-13. In some asthma phenotypes, particularly in severe bronchial asthma, type 1 T helper cells may participate.

Data on the role of CCL3/MIP-1 alpha, that is the type 1 chemokine, in the chronic asthma are divergent, especially in reference to the stage of the disease. It was indicated that in the mild bronchial asthma the ability of peripheral lymphocytes T for synthesizing of CCL3/MIP-1 alpha and CCL4/MIP-1 beta is diminished, however, asthmatics have increased the level of CCL3/MIP-1 alpha in the bronchial washings.[6,7] Increased levels of CCL3/MIP-1 alpha were indicated in the condensate of exhaled air by the children with asthma. [8] Asthmatics with severe bronchial asthma who required hospitalization and reception of steroids in systemic way have unchanged serum levels of CCL3/MIP-1 alpha (self observations).

So that is why it was resolved to estimate if the level of CCL3/MIP-1 alpha, CC chemokine connected with the Th1 response, in serum of patients with bronchial asthma depends on the intensity of disease.

The aim of the study was the analysis of the serum level of CCL3/MIP-1 alpha in patients with different intensity of the bronchial asthma.



Ryc. 1. Stężenia MIP-1 alfa w surowicy krwi w wybranych grupach chorych i w grupie kontrolnej.

AL-U – astma lekka-umiarkowana, AC- astma ciężka, KON – grupa kontrolna

Celem badania była analiza stężeń CCL3/MIP-1 alfa u chorych o różnym nasileniu astmy oskrzelowej.

Materiał i metody

Badaniem objęto 27 osób chorych na astmę oskrzelową, w tym 14 osób (4 mężczyzn) chorych na astmę lekką lub umiarkowaną (grupa AL-U) i 13 chorych (6 mężczyzn) na astmę ciężką (grupa AC) oraz 22 osoby (5 mężczyzn) tworzące grupę kontrolną (grupa KON). Mediana i przedział środkowy wieku badanych osób wynosiły odpowiednio: 35 (27–48), 44 (40–56) i 34 (28–40) lat. U wszystkich chorych wykonano ocenę funkcji płuc za pomocą spirometru Jaeger. Stopień nasilenia astmy określono na podstawie wytycznych GINA.

Grupę kontrolną stanowiło 22 zdrowych ochotników (5 mężczyzn) w wieku 34 lat (przedział środkowy 28–40 lat) bez cech atopii, niepalących tytoniu. Chorzy oraz osoby tworzące grupę kontrolną wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniu, a projekt badania został zatwierdzony przez Komisję Etyczną przy Śląskim Uniwersytecie Medycznym.

Krew została pobrana do analizy z żyły pośrodkowej bez zastosowania środków przeciwkrzepliwych, odwirowana przez 15 minut przy obrotach 1000 g i uzyskana surowica była przechowywana w temperaturze -70°C do czasu przeprowadzenia analizy. Stężenie CCL3/MIP-1 alfa było badane zgodnie z zaleceniami producenta z zasto-

Fig. 1. MIP-1 alpha levels in serum of blond in the chosen groups of patients and in the control group.

M-MA – mild-to-moderate asthma, SA – severe asthma, CON – control group

Materials and methods

27 patients with chronic asthma, including 14 patients (4 men) with mild-to-moderate asthma (M-MA group) and 13 patients (6 men) with severe asthma (SA group), and 22 controls (5 men) (CON group) were included into the study. Median and middle range of the age of people included into the study were: 35 (27–48), 44 (40–56) and 34 (28–40) years. The lungs functions of all the patients with bronchial asthma were estimated with the usage of Jaeger anapnometer. The level of intensity of asthma was determined on the basis of the GINA directives..

The control group made up 22 healthy volunteers (5 men) in the age of 34 years (middle range of 28–40 years) without atopy characteristics, non smoking. Asthmatics and the controls knowingly signed an agreement to take part in the study, and the project of study was accepted by the Ethical Commission of Medical University of Silesia.

The blood was taken for the analysis from the median vein without usage of any anticoagulants, it was centrifuged in 15 minutes with 1000 g revenues and the obtained serum was stored in temperature -70°C till the time of the analysis. Levels of CCL3/MIP-1 alpha were studied in accordance with recommendations of the manufacturer with the usage of ELISA set (R&D Systems, Minneapolis, USA). Lower border of MIP-1 alpha detectability is 10 pg/ml.

Total IgE level was assessed with ELISA method of Allergopharma company.

sowaniem zestawu ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA). Dolna granica wykrywalności MIP-1 alfa wynosi 10 pg/ml.

Całkowite stężenie IgE oceniono metodą ELISA firmy Allergopharma.

Analiza statystyczna

Wyniki przedstawiono jako medianę i przedział środkowy. W analizie statystycznej w celu porównania grup badanych zastosowano testy nieparametryczne Kruskalla-Wallisa i U Mann-Whitney, a w ocenie korelacji test korelacji rang Spearmana.

Za wartość istotną statystycznie uznano $p < 0,05$. Zastosowano pakiet Statistica PL, wersję 5.1.

Wyniki

Wiek chorych był znamienne wyższy w grupie chorych na astmę ciężką niż w grupie chorych na astmę lekką lub umiarkowaną i w grupie kontrolnej ($p < 0,001$). Mediana i przedział środkowy czasu od rozpoznania astmy do pobrania materiału do badań wynosił w grupie AL-U 3 lata (1–6,5 lat) i w grupie AC – 20 lat (10–28 lat) i był znamienne dłuższy w grupie AC ($p < 0,0001$).

Wartości stężeń (mediana i przedział środkowy) MIP-1 alfa w grupach AL-U, AC i KON wynosiły odpowiednio: 46,625 (45,5–54,07) pg/ml, 56,0 (52–65) pg/ml i 46 (43–53) pg/ml i były znamienne większe w grupie chorych na astmę ciężką niż w grupie chorych na astmę lekką lub umiarkowaną ($p = 0,02$) i w grupie kontrolnej ($p = 0,001$). Wartości stężeń były porównywalne w grupie chorych na astmę lekką lub umiarkowaną i w grupie kontrolnej (Ryc. 1). Stężenia IgE były porównywalne w grupach AL-U i AC i wynosiły odpowiednio 48,5 kU/l(38-84) i 288 kU/l (82-495), $p = 0,06$.

Nie stwierdzono istotnych korelacji między stężeniem MIP-1 alfa a wiekiem, czasem trwania astmy i całkowitym stężeniem IgE.

Dyskusja

Białko zapalne makrofagów 1 alfa (*macrophage inflammatory protein 1 alpha/CCL3*) należy do grupy CC chemokin. CCL3/MIP-1 alfa jest wydzielana głównie przez monocyty/makrofagi, limfocyty T i B, neutrofile, komórki dendrytyczne, komórki tuczne i NK i w mniejszym stopniu przez inne komórki, takie jak komórki nabłonka czy fibroblasty [9]. CCL3/MIP-1 alfa działa przez receptory sprzężone z białkiem G, wpływając na chemotaksję i degranulację komórek, syntezę mediatorów i fagocytozę.

W niniejszym badaniu wykazano, że stężenie CCL3/MIP-1 alfa jest zwiększone u osób chorych na ciężką astmę o długim przebiegu w porównaniu z chorymi na astmę lekką i umiarkowaną oraz grupą osób zdrowych bez cech alergii. Stężenia te nie korelowały z wiekiem, całkowitym stężeniem IgE i czasem trwania astmy.

Wyniki wskazują na znaczenie tej chemokiny przede

Statistical analysis

The results were presented as median and middle range. In the statistical analysis the non-parametric Kruskall-Wallis and Mann-Whitney U tests were used to compare the groups of people included into the study, and the test of Spearman rank correlation in the assessment of correlations.

$P < 0,05$ was regarded to be of statistically fundamental value. The Statistica PL packet, 5.1 version was used for the analysis.

Results

The age of patients with severe asthma was characteristically more advanced than of patients with mild-to-moderate asthma and of control group ($p < 0,001$). Median and middle range of time from asthma diagnosis till uptaking the material for the examination was 3 years (1-6,5 years) in the M-MA group and 20 years (10-28 years) in the SA group and was characteristically longer in the SA group ($p < 0,0001$).

Values of levels (median and middle range) of MIP-1 alpha in M-MA, SA and CON groups were respectively: 46,625 (45,5-54,07) pg/ml, 56,0 (52-65) pg/ml and 46 (43-53) pg/ml and were characteristically larger in the group of patients with severe asthma than in the group of patients with middle-to-moderate asthma ($p = 0,02$) and in the control group ($p = 0,001$). Levels values were comparable in the group of patients with mild-to-moderate asthma and in the controls (Pic.1).

IgE levels were comparable in M-MA and SA groups and were respectively 48,5 kU/l(38-84) and 288 kU/l (82-495), $p = 0,06$.

There were no essential correlations between MIP-1 alpha levels and the age, time of asthma duration and the total IgE level.

Discussion

Macrophage inflammatory protein 1 alpha/CCL3 belongs to the CC group of chemokines. CCL3/MIP-1 alpha is produced mainly by monocytes/microphages, T and B lymphocytes, neutrophils, dendritic cells, mastocytes and KC and in the smaller level by other cells such as epithelium cells or fibroblasts [9]. CCL3/MIP-1 alpha works through the receptors adjoined with G-protein, influencing hemotaxis and degranulation of cells, synthesis of mediators and phagocytosis.

In this study it was indicated that the CCL3/MIP-1 alpha level is increased in patients with severe asthma with long duration in comparison to patients with middle-to-moderate asthma and to the group of healthy people without any features of allergy. These levels did not correlate with the age, total IgE level and the asthma duration.

These results indicate the importance of this chemokine especially in older patients with severe asthma with long duration of the disease. Groups which took part

wszystkim w ciężkiej astmie, o długim przebiegu, u osób starszych. Badane grupy chorych nie były porównywalne pod względem wieku i czasu trwania astmy. Jednak brak korelacji pomiędzy stężeniem CCL3/MIP-1 alfa a wymienionymi parametrami powoduje, że różnice w charakterystyce badanych grup chorych nie zakłócają interpretacji wyników stężeń CCL3/MIP-1 alfa.

Wyniki badań dotyczących znaczenia CCL3/MIP-1 alfa w astmie są sprzeczne i wskazują na zależność od stopnia nasilenia astmy i czasu trwania choroby. Zwraca się również uwagę na zmieniający się wraz z przebiegiem astmy udział różnych grup komórek w patofizjologii choroby. Według definicji podanej przez inicjatywę GINA uważa się, że astma oskrzelowa jest chorobą o podłożu zapalnym, w której uczestniczy wiele komórek, w tym m. in. limfocyty typu Th2. Są jednak dane, które wskazują na rolę Th1 w astmie oskrzelowej. Wykazano, że w fazie przewlekłej, bezobjawowej w reakcji zapalenia alergicznego uczestniczą granulocyty kwasochłonne oraz cytokiny IFN-gamma i GM-CSF [10]. Obserwowano również zależność między ekspresją TLR4 na monocytach krwi obwodowej, biorących udział w mechanizmach obronnych przeciw lipopolisacharydom bakteryjnym a liczbą limfocytów Th1 u chorych na astmę oskrzelową [11]. W innym badaniu wykazano zwiększoną liczbę limfocytów typu CD8 wytwarzających IFN- γ , która korelowała z nasileniem astmy, nadreaktywnością oskrzeli i eozynofilią [12]. Wynika z tego, że astma oskrzelowa jest schorzeniem niejednorodnym, o zmiennej patofizjologii, w przebiegu której uczestniczą również limfocyty Th1.

CCL3/MIP-1 alfa uznaje się za chemokinę związaną z odpowiedzią typu Th1. Uczestniczy w reakcjach związanych z limfocytami typu Th1 zarówno w reakcjach dotyczących układu oddechowego, jak i w zmianach skórnych poprzez indukowanie reakcji przypominających nadwrażliwość typu natychmiastowego i opóźnionego [13]. Ponadto wykazano w warunkach *in vivo*, że białko CCL3/MIP1- α uczestniczy w gromadzeniu się eozynofiliów w drogach oddechowych po prowokacji [14].

Wydaje się więc, że zwiększone stężenie chemokiny CCL3/MIP1- α u chorych na ciężką astmę wskazuje na tendencję do przechodzenia w fazę związaną z odpowiedzią typu Th1, charakterystyczną dla faz przewlekłych niektórych chorób alergicznych [15].

Wnioski

Zwiększone stężenie CCL3/MIP1-alfa w przewlekłej ciężkiej astmie oskrzelowej może wskazywać na znaczenie odpowiedzi typu Th1 w patofizjologii tej postaci choroby.

in the study were not compared with regard to the age and asthma duration. However, the lack of correlation between CCL3/MIP-1 alpha levels and parameters mentioned before, results in the fact, that the differences characteristic for the groups which took part in the study do not disrupt the interpretation of the results of CCL3/MIP-1 alpha levels.

The results of the study concerning the meaning of CCL3/MIP-1 alpha in asthma are contradictory and indicate the dependence on the stage of asthma intensification and its duration. Attention is also paid to the change of contribution of different groups of cells in the pathophysiology of asthma together with its course. According to the definition given by GINA initiative it is considered that bronchial asthma is a disease with inflammatory basis, in which many cells are taking parts, among the others type 2 T helper cells. However, there exist data which indicate the role of Th1 in bronchial asthma. It was proved that in the persistent phase, asymptomatic in reaction of allergic inflammation eosinophiles IFN-gamma cytokines and GM-CSF are taking part. [10] There was also observed that there is the dependence of TLR4 expression on peripheral blood monocytes, taking part in the defense mechanism against bacterial lipopolysaccharides and the number of others 1 T helper cells in the patients with bronchial asthma. [11] In other study the higher number of lymphocytes of CD8 type producing IFN, which correlated with asthma intensification, bronchial hyperreactivity, and eosinophilia was indicated. [12] It results from the fact that bronchial asthma is heterogenic with changeable pathophysiology in course of which 1 T helper cells are also taking part.

CCL3/MIP-1 alpha is considered to be the chemokine connected with type Th1 response. It takes part in reactions connected with type 1 T helper cells both in the reactions concerning respiratory system as well as in cutaneous lesions through induction of reaction resembling hypersensitivity of immediate and delayed type. [13] What is more, it was indicated in the *in vivo* conditions, that CCL3/MIP1- α protein takes part in the commutation of eosinophiles in the air passages after provocation. [14]

It seems that increased CCL3/MIP1- α chemokine levels in patients with severe asthma indicated the tendency of proceeding into the phase connected with type Th1 response, characteristic to the chronic phases of some allergic diseases. [15]

Conclusion

Increased CCL3/MIP1-alpha levels in the chronic severe bronchial asthma can indicate the meaning of type Th1 response in the pathophysiology of this form of disease.

Piśmiennictwo / References

1. Rot A, Von Adrian UH. *Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokines grammar for immune cells.* Annu Rev Immunol 2004;22:891-928.
2. Schrup S, Probst P, Fleischer B et al. *Synthesis of CC-chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and RANTES is associated with a type 1 immune response.* J Immunol 1996; 157: 3598-3604.
3. Rot A, Von Adrian UH. *Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokines grammar for immune cells.* Annu Rev Immunol 2004; 22:891-928.
4. Campbell J, Stinson MJ, Simons E., HayGlass KT. *Systemic chemokines and chemokine receptor responses are divergent in allergic versus non-allergic humans.* Int Immunol 2002;14:1255-1262.
5. *Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA) 2009.* National Institutes of Health. National Heart, Lung and Blood Institute. www.ginasthma.com.
6. Grob M, Schmid-Grendelmeier P, Joller-Jemelka HI, Ludwig E, Dubs RW, Grob PJ, Wutrich B, Bisset LR. *Altered intracellular expression of the chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and IL-8 by peripheral blood CD4+ and CD8+ in mild allergic asthma.* Allergy 2003;58:239-245.
7. Tillie-Leblond I, Hammad H, Desurmont S i wsp. *CC chemokines and interleukin-5 in bronchial lavage fluid from patients with status asthmaticus. Potential implication in eosinophils recruitment.* Am J Respir Crit Care Med 2000;162:586-92.
8. Robroeks CM, Rijkers GT, Jobsis Q, Hendriks HJ, Damoiseaux JG, Zimmermann LJ i wsp. *Increased cytokines, chemokines and soluble adhesion molecules in exhaled breath condensate of asthmatic children.* Clin Exp Allergy 2010;40:77-84.
9. Maurer M, von Stebut E. *Macrophage inflammatory protein-1.* Int J Biochem Cell Biol 2004;36:1882-1886.
10. Kim CK, Choi J, Callaway Z, Lijima Km Volcheck G, Kita H. *Increases in airway eosinophilia and a Th1 cytokine during the chronic asymptomatic phase of asthma.* Respir Med. 2010;104:1436-43.
11. Siwiec J, Zaborowski T, Jankowska O, Wojas-Krawczyk K, Krawczyk P, Milanowski J. *Evaluation of Th1/Th2 lymphocyte balance and lipopolysaccharide receptor expression in asthma patients.* Pneumonol Alergol Pol. 2009; 77: 123-3.
12. Magnan A, Mely L, Camilla C, Badier M, Montero-Julian F, Guillot Ch. i wsp. *Assessment of the Th1/Th2 paradigm in whole blood in atopy and asthma. Increased IFN-gamma-producing CD8.* Am J Respir Crit Care Med Vol 161. pp 1790–1796, 2000.
13. Gaga M, Ong YE, Benyahia F, Aizen M, Barkans J, Kay AB. *Skin reactivity and local cell recruitment in human atopic and nonatopic subjects by CCL2/MCP-1 and CCL3/MIP1-alpha.* Allergy 2008;703-711.
14. Lukacs N, Stricter R M, Shaklee CL, Chensue S, Kunkel SL. *Macrophage inflammatory protein-1 α influences eosinophil recruitment in antigen-specific airway inflammation.* Eur. J. Immunol. 1995; 25, 245-251.
15. Chen L, Martinez O, verbergh L, Mathieu C, Prabhakar BS, Chan LS. *Early up-regulation of Th2 cytokines and late surge of Th1 cytokines in an atopic dermatitis model.* Clin Exp Immunol 2004;138:375-87.

Adres do korespondencji / Mailing address:

Joanna Glück

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych,

Alergologii i Immunologii Klinicznej

Śląski Uniwersytet Medyczny

ul. Ceglana 35, 40-952 Katowice

+48323581435