

**MECHANIZMY REGULACJI ODPOWIEDZI  
IMMUNOLOGICZNEJ W ZWIERZĘCYM MODELU  
ALERGICZNEGO KONTAKTOWEGO ZAPALENIA  
SKÓRY****MECHANISMS INVOLVED IN THE REGULATION OF IMMUNE  
RESPONSE IN ANIMAL MODEL OF ALLERGIC CONTACT  
DERMATITIS**

Anna Strzępa, Tomasz Stramek, Marian Szczepanik

*Department of Medical Biology, Jagiellonian University College of Medicine,  
Krakow, Poland***Corresponding author:** Prof. Marian Szczepanik*mmszczep@cyf-kr.edu.pl***Source of Support:**

The work was created with financial support from the NCN: UMO-2011/01/B/NZ6/00300, 2011/03/B/NZ6/00821 and 2012/05/B/NZ6/00997

**Competing Interests:**

None

Our Dermatol Online. 2014; 5(Suppl. 1): 327-332

Date of submission: 31.07.2014 / acceptance: 01.09.2014

**Streszczenie**

Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry jest klasycznym przykładem późnej reakcji nadwrażliwości typu IV, którą mediują limfocyty efektorowe CD4<sup>+</sup> Th1. Rozwój alergicznego kontaktowego zapalenia skóry (ACD) jest następstwem ekspozycji na działanie małowcząsteczkowych substancji (hapteny). Obecnie ACD jest jedną z najczęstszych chorób zawodowych. Występowanie alergii kontaktowej na co najmniej jeden czynnik w krajach Europy Zachodniej i Ameryki Północnej dochodzi do 19,5% dla różnych grup wiekowych. Klasyczna egzematyczna postać ACD manifestuje się jako rumień, naciek, nadmierne rogowacenie, obrzęk i pęcherze, którym towarzyszy świąd. Modelem zwierzęcym ACD jest reakcja nadwrażliwości kontaktowej (CS). Składa się ona z dwóch następujących po sobie etapów: indukcja (faza aferentna) i wywołanie (faza eferentna). W trakcie pierwszego kontaktu z haptentem powstają swoiste limfocyty efektorowe (Tef), które są rekrutowane do miejsca ponownej ekspozycji na haptent. W tym artykule przedstawiono mechanizmy immunologiczne leżące u podstaw ACD, opierając się na modelu CS.

**Abstract**

Allergic contact dermatitis is classical example of late hypersensitivity type IV reaction, which is mediated by CD4<sup>+</sup> Th1 effector cells. Allergic contact dermatitis (ACD) develops after exposure to low molecular weight substances (haptens). At the moment ACD is one of the most common occupational diseases. The prevalence of contact allergy in Western Europe and North American countries to at least one agent reaches up to 19.5% in different age groups. Classical eczematous form of ACD manifests as an erythema, infiltration, hyperkeratosis, swelling and blisters, accompanied by itching. Animal model of ACD is contact sensitivity reaction (CS). It consists of two following stages: induction (afferent phase) and elicitation (efferent phase). First contact with hapten results in induction of antigen-specific effector T-cells (Tef), which are recruited to a site of subsequent exposure to hapten. This review discusses immunological mechanisms that underline ACD, based on a CS model.

**Słowa kluczowe:** nadwrażliwość kontaktowa; alergiczne kontaktowe zapalenie skóry; egzema; mechanizm**Key words:** contact hypersensitivity; contact sensitivity; allergic contact dermatitis; eczema; mechanism

**Skróty:** ACD - alergiczne kontaktowe zapalenie skóry; ATP - adenozylo-5'-trifosforan; CLA - receptor zasiedlania skóry; CS - nadwrażliwość kontaktowa (ang. Contact Sensitivity); DAMP - sygnały zagrożenia; DC - komórka dendrytyczna; dDC - skórne komórki dendrytyczne; DNCB - dinitrochlorobenzen; DNFB - dinitrofluorobenzen; IL - interleukina; LC - komórka Langerhansa; MMP - metaloproteinaza macierzy; OX - oksazolony; PRR - receptory rozpoznające wzorce; ROS - reaktywne formy tlenu; siRNA - interferencyjne RNA; Tc - limfocyt cytotoksyczny; Tef - limfocyt T efektorowy; Th - limfocyt pomocniczy; TNF - czynniki martwicy guza; TNP-CI - chlorek pikrylu (chlorek trinitrofenylu); UVA - promieniowanie ultrafioletowe A

**Cite this article:**

Strzępa A, Stramek T, Szczepanik M. Mechanizmy regulacji odpowiedzi immunologicznej w zwierzęcym modelu alergicznego kontaktowego zapalenia skóry. [Mechanisms involved in the regulation of immune response in animal model of allergic contact dermatitis]. *Our Dermatol Online*. 2014; 5(Suppl. 1): 327-332.

## Wstęp

Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry jest klasycznym przykładem późnej reakcji nadwrażliwości typu IV, którą mediują limfocyty efektorowe CD4+ Th1. Rozwój alergicznego kontaktowego zapalenia skóry (ACD) jest następstwem ekspozycji na działanie małych cząstek substancji (haptenu). Obecnie ACD jest jedną z najczęstszych chorób zawodowych. Występowanie alergii kontaktowej na co najmniej jeden czynnik w krajach Europy Zachodniej i Ameryki Północnej dochodzi do 19,5% dla różnych grup wiekowych. Klasyczna egzematyczna postać ACD manifestuje się jako rumień, naciek, nadmierne rogowacenie, obrzęk i pęcherze, którym towarzyszy świąd.

Modelem zwierzęcym ACD jest reakcja nadwrażliwości kontaktowej (CS). Składa się ona z dwóch następujących po sobie etapów: indukcja (faza aferentna) i wywołanie (faza eferentna). W trakcie pierwszego kontaktu z haptentem powstają swoiste limfocyty efektorowe (Tef), które są rekrutowane do miejsca ponownej ekspozycji na haptent. W tym artykule przedstawiono mechanizmy immunologiczne leżące u podstaw ACD, opierając się na modelu CS.

### 1. Nadwrażliwość kontaktowa

Nadwrażliwość kontaktowa (CS) jest przykładem nadwrażliwości późnej typu IV w której dochodzi do indukcji antygenowo swoistych komórek T efektorowych (Tef) [1]. Reakcja CS składa się z etapu indukcji (uczulenia) oraz następującego po nim wywołania odpowiedzi. Zapoczątkowanie reakcji związane jest z aplikacją haptenu, który inicjuje produkcję czynników pobudzających dojrzewanie komórek dendrytycznych (DC) skóry. Zaktywowane komórki DC pobierają antygen i transportują go do lokalnych węzłów chłonnych gdzie zachodzi rozpoznanie antygeny przez limfocyty T i ich aktywacja. W zależności od rodzaju antygeny powstają Tef o fenotypie Th1, Th17 albo Th2 lub CD8+ limfocyty cytotoksyczne (Tc) [2]. W następstwie uczulenia haptentem dochodzi również do aktywacji komórek NKT oraz limfocytów B-1, odgrywających kluczową rolę w inicjacji reakcji CS [3]. Wywołanie reakcji, następuje po ponownej ekspozycji skóry na niską dawkę antygeny w miejscu innym niż immunizacja. Napływające antygenowo swoiste komórki efektorowe, pośredniczą w rekrutacji pełniących funkcje efektorowe antygenowo-niespecyficznych makrofagów, neutrofilii [4]. Limfocyty cytotoksyczne eliminują prezentujące antygen keratynocyty.

W oparciu o mechanizm efektorowy reakcji CS dokonano podziału odpowiedzi typu IV na cztery podtypy. W podtypie IVa funkcje efektorowe pełnią makrofagi pobudzone INF- $\gamma$  wydzielanym przez limfocyty Th1. W podtypie IVb kluczową rolę odgrywają limfocyty Th2 indukujące syntezę przeciwciał IgE oraz aktywację eozynofili. Limfocyty Tc dominują w podtypie IVc. Natomiast gdy mechanizmy efektorowe wiążą się z pobudzonymi neutrofilami reakcja CS należy do podtypu IVd [5]. Obecne badania w skazują, że komórki NK również mogą pełnić funkcje efektorowe a także komórek pamięci [6].

### 2. Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry

Obrazem klinicznym nadwrażliwości kontaktowej jest alergiczne kontaktowe zapalenie skóry (ACD). Manifestacja kliniczna ACD jest następstwem wielokrotnej, przebiegającej

bezobjawowo, trwającej miesiącami ekspozycji skóry na działanie niskocząsteczkowych substancji w niskim stężeniu. Zidentyfikowano około 3000 substancji wywołujących ACD. Należą do nich powszechnie stosowane w przemyśle, metale ciężkie (chrom, nikiel, kobalt), terpentyna, substancje zapachowe oraz konserwujące zawarte w kosmetykach, żywice epoksydowe i ich utwardzacze jak również niektóre leki stosowane w maściach (np. neomycyna). Ze względu na powszechne występowanie tych substancji, ACD jest jedną z najczęstszych chorób zawodowych, znacznie ograniczających aktywność zawodową [7,20,21,24]. Częstość alergii kontaktowych na co najmniej jeden czynnik uczulający określona dla poszczególnych grup wiekowych w Ameryce Północnej i Europie Zachodniej sięga 19,5 % [7].

Postać kliniczna schorzenia obejmuje klasyczne zmiany egzematyczne oraz inne formy nieegzematyczne. W swojej klasycznej egzematycznej postaci ACD występuje jako rumień, naciek, punktowe nadmierne rogowacenie, obrzęk i pęcherze. Zmianom tym może towarzyszyć łuszczenie, tworzenie obszarów hiperkeratycznych, pęknięcia i szczeliny, nadżerki oraz infekcje bakteryjne wywołane głównie przez *Staphylococcus aureus*. Postać egzematyczna ma zwykle charakter dynamiczny. Rumień, obrzęk i pęcherze występują zazwyczaj w ostrej fazie choroby, zaś naciek, nadmierne rogowacenie oraz pęknięcia i szczeliny obserwujemy typowo w egzemie o przewlekłym przebiegu. Wszystkim formom morfologicznym ACD towarzyszy świąd, a w przypadku wystąpienia pęknięcia skóry dodatkowo występuje ból [8]. Nieegzematyczny obraz kliniczny choroby można zaobserwować nawet u 52 % chorych poddanych diagnostyce za pomocą testów płatkowych [7]. Przy omawianiu nieegzematycznych form ACD warto wspomnieć o zmianach przypominających obraz w przebiegu rumienia wielopostaciowego. Wczesna postać tej odmiany klinicznej ACD występuje w formie i lokalizacji typowej dla odmiany egzematycznej. W przeciągu od 1 do 15 dni następuje zmiana charakteru morfologicznego w postać rumienia obejmującego obszar dotychczasowej zmiany, a nawet obszar całej powierzchni skóry. To przekształcenie bywa następstwem zastosowania leków miejscowych, na które pacjent był uprzednio uczulony. Zanik tych zmian jest zazwyczaj powolny. Niekiedy objawy w formie rumienia pojawiają się po zaniknięciu zmian egzematycznych. Pozostałe nieegzematyczne postaci kliniczne kontaktowego zapalenia skóry (plamicza, liszajowa, limfoidalna, barwnikowa, krostkowa) mają zarówno tło alergiczne jak i wynikające z drażniącego działania substancji takich jak barwniki azowe, kobalt, prafenylenodiamina, czy Sudan I. Ustalenie dokładnej etiologii takiego obrazu klinicznego jest trudne lub nawet niemożliwe za pomocą standardowych, klinicznych metod diagnostycznych [8]. Zmiany pojawiają się głównie na dłoniach zajmując niekiedy obszar jedynie koniuszków palców. Mogą jednak sięgać nadgarstka [25]. Pozostałe lokalizacje zmian to stopy, twarz, powieki, płatki uszu oraz doły pachowe [7,23]. Czynniki ryzyka rozwoju ACD można podzielić na nabyte oraz stałe. Zidentyfikowane do tej pory nabyte czynniki ryzyka to kontaktowe zapalenie skóry z podrażnienia, zapalenie skóry z zastoju i polisensytyzacja. Co do nabytych czynników i ich faktycznie nabytego charakteru oraz roli w podatności na ACD wciąż trwa ożywiona dyskusja [10-15].

Stale czynniki ryzyka obejmują czynniki genetyczne, wiek i płeć.

Ustalono dotychczas związku pomiędzy genotypem a występowaniem ACD to między innymi polimorfizm genów kodujących naskórkową N-acetylotransferazę [16], homogenna delecja genu kodującego S-transferazę glutationu T1 i M1 [17], mutacja genu promotora TNF- $\alpha$  w pozycji 308 [18], polimorfizm promotora genu dla interleukiny IL-16 [19]. Dotychczasowe badania wskazują, że indukcja i aktywacja ACD maleje wraz ze wrastającym wiekiem [20]. Badania epidemiologiczne wskazują na częstsze występowanie ACD u kobiet zwłaszcza w młodszych grupach wiekowych [7,21,22].

W terapii ACD głównie zaleca się unikanie czynnika wywołującego uczulenie. Początkowo eliminuje się wiele czynników kontaktowych potencjalnie mogących wywołać sensytyzację [23,24]. Znane czynniki można zastąpić substytutami [24]. Standardowa farmakoterapia obejmuje leczenie miejscowymi sterydami grup III i IV według Europejskiej Klasyfikacji Kortykosteroidów np. betametazonem czy fluocinolonom, dobieranymi w zależności od ciężkości i lokalizacji objawów [8]. Niektóre źródła literaturowe wskazują na skuteczność terapii polegającej na miejscowym podawaniu makrolidu jakim jest tacrolimus. Ta strategia terapeutyczna wydaje się szczególnie korzystna gdy występuje konieczność przewlekłej terapii lekami miejscowymi w celu uniknięcia skutków ubocznych stosowania glikokortykoidów [26]. Leczeniem drugiego rzutu może być promieniowanie UVA, azatiopryna, cyklosporyna, promieniowanie Grenz, czy doustne retinoidy (alitretynoina) [27-31]. W pewnych przypadkach gdy np. eliminacja czynnika wywołującego chorobę jest niemożliwa, konieczne może być zastosowanie doustnych steroidów (np. metyprednisonu), najlepiej w formie terapii pulsowej ze stopniowo zmniejszaną dawką, zwłaszcza gdy pożądane jest szybkie zminimalizowanie objawów klinicznych [23].

### 3. Hapteny, jako czynniki regulujące indukcję swoistych limfocytów efektorowych

Alergeny kontaktowe są niskocząsteczkowymi substancjami nie posiadającymi właściwości immunogennych *per se*, które zyskują zdolność do indukcji odpowiedzi immunologicznej po przyłączeniu się do większych molekuł, takich jak np. białka naskórka [32]. Zdolność substancji do modyfikacji białek skóry jest związana z elektrofilowym charakterem haptentów mogących oddziaływać z nukleofilowymi resztami aminokwasów takich jak lizyna, cysteina oraz histydyna. Elektrofilowość alergenów kontaktowych może być ich integralną właściwością, wtedy haptenty określane są jako kompletne. Niektóre haptenty uzyskują zdolność do modyfikowania białek dopiero po enzymatycznym przetworzeniu prowadzącym do uzyskania elektrofilowości. Aktywacja pro-haptentów odbywa się w obrębie skóry [33] natomiast pre-haptenty wymagają chemicznego przetworzenia poza jej obrębem [34]. Struktura powstała po przyłączeniu się alergenów kontaktowych do białka, nosi nazwę neoantygeny. Zmodyfikowane białka po pobraniu a następnie przetworzeniu przez komórki prezentujące są prezentowane limfocytom T CD4+ w kontekście antygenów MHC II indukując powstanie limfocytów CD4+ Tef. Większości haptentów ma lipofilowy charakter, co ułatwia przenikanie przez błonę komórkową i modyfikację białek cytoplazmatycznych, które są prezentowane limfocytom T CD8+ w kontekście antygeny MHC I prowadząc do powstania Tc-1 efektorowych.

### 4. Modele zwierzęce

Analiza mechanizmów leżących u podstaw ACD u człowieka odbywa się przy pomocy modeli zwierzęcych. Ten typ odpowiedzi u zwierząt laboratoryjnych określany jest jako nadwrażliwość kontaktowa. W celu indukcji reakcji CS skóra myszy [35], świnek morskich [36] albo szczurów [37] jest ekspozycja na wysoką dawkę antygeny. Cztery lub pięć dni po ekspozycji następuje wywołanie reakcji poprzez podanie tego samego alergenów na ucho lub stopę gryzonia. Intensywność reakcji określana jest poprzez pomiar przyrostu grubości ucha lub kończyny.

Najczęściej stosowanymi alergenami kontaktowymi są chlorek pikrylu (TNP-Cl, chlorek trinitrofenyłu), dinitrochlorobenzen (DNCB), dinitrofluorobenzen (DNFB) oraz oksazolon (OX). Użycie określonego alergenów kontaktowych determinuje rodzaj powstającej odpowiedzi. Preferencyjna indukcja odpowiedzi Th1 CD4+-zależnej, uzyskiwana jest przez immunizację TNP-Cl myszy CBA/J [38,39], natomiast wytworzenie odpowiedzi Tc1 CD8+-zależnej jest wynikiem zastosowania DNFB, DNFB lub OX u myszy szczepu C57BL/6 lub DNFB albo OX u myszy BALB/c [40,41].

### 5. Mechanizm reakcji nadwrażliwości kontaktowej

Reakcja CS składa się z dwóch następujących po sobie etapów, indukcji (faza aferentna) oraz wywołania (faza eferentna). W artykule ograniczamy się do opisu mechanizmu reakcji CS Th1 zależnej.

#### 5.1. Etap indukcji reakcji CS (faza afferentna)

Aplikacja alergenów kontaktowych na skórę generuje w jej obrębie reaktywne formy tlenu (ROS), stymulujące powstanie sygnałów zagrożenia (DAMP) takich jak adenozyno-5'-trifosforan (ATP) oraz fragmenty kwasu hialuronowego. W keratynocytach oraz DC sygnały te aktywują receptory rozpoznające wzorce (PRR) a w szczególności wewnątrzkomórkowy inflammasom, uczestniczy w aktywacji pro-kaspazy 1, który przekształca pro-IL-1 $\beta$  oraz pro-IL-18 w aktywne formy tych cytokin. Cytokiny te wraz z produkowanym przez keratynocyty TNF- $\alpha$  są konieczne do pełnej aktywacji DC [42].

W przeciągu jednej godziny od uczulenia haptentem, dochodzi także do aktywacji wątrobowych komórek iNKT, rozpoznających glikolipidy w kontekście antygenów CD1d. Zaktywowane limfocyty iNKT produkują IL-4 [43], która aktywuje otrzewnowe limfocyty B-1 o unikalnym fenotypie, Thy1+CD5+CD3-CD4-, swoiste dla użytego haptentem. Pobudzone limfocyty B-1, wędrują do śledziony oraz lokalnych węzłów chłonnych, gdzie syntetyzują antygenowo swoiste przeciwciała klasy IgM [44,45]. Przeciwciała te określane jako inicjujące biorą udział w wywołaniu reakcji po ponownym kontakcie z haptentem.

Ponadto w ciągu czterech kolejnych dni po immunizacji następuje indukcja antygenowo swoistych limfocytów T efektorowych. Środowisko powstałe po aplikacji haptentem w skórze, bogate w IL-1 $\beta$ , IL-18 oraz TNF- $\alpha$ , prowadzi do aktywacji DC oraz uzyskania przez nie zdolności do migracji. Ponadto połączenia DC z otaczającymi je keratynocytami ulegają rozluźnieniu. Proces ten związany jest ze zmniejszeniem ekspresji E-kadheryn przez DC, utrzymujących je w kontakcie z keratynocytami oraz spadkiem ilości receptorów dla chemokiny CCL20 produkowanej przez keratynocyty.

Równocześnie DC uzyskują zdolność do oddziaływania z macierzą międzykomórkową, przez wzrost ekspresji CD44 oraz  $\alpha 6$ -integriny promujących te oddziaływania. Następnie indukcja receptora CCR7 na DC rozpoznającego produkowaną przez naczynia limfatyczne chemokinę CCL21, mobilizuje migrację DC w kierunku naczyń limfatycznych. Wytwarzane przez DC metaloproteinazy macierzy (MMP) rozluźniają połączenia skórno-naskórkowe umożliwiając przejście tych komórek do naczyń limfatycznych. Proces migracji połączony jest z dojrzewaniem DC, które wiąże się utratą zdolności tych komórek do pobierania i przetwarzania antygenów przy równoczesnym wzmożeniu ekspresji antygenów MHC II oraz molekuł kostymulujących, co prowadzi do efektywniejszej prezentacji antygeny. W lokalnych węzłach chłonnych DC stymulują różnicowanie naiwnych limfocytów do limfocytów efektorowych, które rozpoczynają wędrówkę między narządami limfatycznymi a krwią.

Do tej pory zidentyfikowano trzy główne populacje komórek prezentujących antygen biorących udział w reakcji CS. Zaliczamy do nich znajdujące się w obrębie naskórka komórki Langerhansa (LC), oraz zasiedlające skórę właściwą dwie populacje komórek dendrytycznych (dDC), różniące się między sobą ekspresją antygeny CD207+ znanego również jako Langerina [42]. Prowadzone wcześniej badania wskazywały, że komórki LC, pełnią kluczową rolę w indukcji reakcji CS, gdyż aplikacja haptenu na miejsca ich pozbawione, jak skóra ogona, nie prowadzi do rozwoju reakcji CS [46]. Obecnie prowadzone są badania przy użyciu myszy transgenicznym, u których poszczególne populacje komórek prezentujących w skórze można usuwać w skoordynowany sposób. Wykazały one, że rola LC oraz dDC w reakcji CS jest zróżnicowana i zależna od etapu reakcji. Usunięcie komórek LC oraz dDC w skórze prowadzi do zahamowania reakcji CS. W przeciągu dwóch tygodni od usunięcia komórek prezentujących dochodzi do ponownego zasiedlenia skóry przez dDC ale nie LC. Badania te wykazały, że obecność w skórze dDC jest wystarczająca do przywrócenia reakcji CS wskazując na kluczową rolę tych komórek w wywołaniu reakcji CS. Z kolei selektywne usunięcie LC prowadzi do wzmocnienia reakcji CS [47]. Doświadczenia w których LC usuwano w różnych punktach czasowych wskazały, że komórki te są zaangażowane w hamowanie indukcji reakcji CS nie wpływając na jej wywołanie [47]. Przypuszcza się, że proces hamowania odpowiedzi może być spowodowany kontaktem między komórkami Tef oraz LC w obecności IL-10 [48].

### 5.2. Etap wywołania reakcji CS (faza efferentna)

Wywołanie reakcji CS następuje na skutek ponownego kontaktu z haptenu w innym miejscu niż miejsce immunizacji. Proces ten składa się z fazy wczesnej występującej w przeciągu 2 godzin, związanej z aktywacją układu dopełniacza przez antygenowo-swoiste przeciwciała IgM oraz fazy późnej rozwijającej się po około 24 godz. od podania haptenu i mediowanej przez limfocyty Tef.

Etap wczesny fazy efektorowej reakcji CS inicjowany jest przez przeciwciała klasy IgM, wyprodukowane w fazie aferentnej przez limfocyty B-1 [49]. Rozpoznają one neoantygeny powstałe w wyniku przyłączenia się haptenu do białek gospodarza a powstałe kompleksy immunologiczne, aktywują dopełniacz na drodze klasycznej. Uwolniona anafilatoksyna C5a [50] stymuluje wydzielanie mediatorów zapalenia przez mastocyty

i płytki krwi [51]. Uwolnione TNF- $\alpha$ , GM-CSF, chemokiny oraz serotonina wpływają na ekspresję molekuł adhezyjnych na śródbłonkach naczyń regulujących diapdezę antygenowo-swoistych limfocytów T efektorowych. W miejscu zapalenia dochodzi do ekspresji P- oraz E-selektyn, rozpoznających znajdujące się na zaktywowanych limfocytach T receptory zasiedlania skóry (CLA), zatrzymując komórki Tef w miejscu aplikacji haptenu. Receptory śródbłonków naczyń ICAM-1 (CD54) oraz VCAM-1 rozpoznają integryny limfocytów odpowiednio LFA-1 oraz VLA-4, powodując adhezję tocących się komórek Tef do śródbłonna naczyń. Natomiast PECAM-1 (CD34) zlokalizowany na limfocytach Tef oraz śródbłonku reguluje migrację komórek Tef do tkanek. Proces ten jest nasilony przez wazodylatację, która jest następstwem stanu zapalnego. Etap ten rozwija się w przeciągu 2 godz. od aplikacji czynnika indukującego odpowiedź [52].

Limfocyty Tef rozpoznające haptenu w miejscu ponownej ekspozycji uczestniczą w rozwoju fazy późnej reakcji CS. Komórki Tef wydzielają m.in. INF- $\gamma$ , który aktywuje makrofagi. Cytokiny te wzmagają w obrębie skóry produkcję mediatorów zapalenia takich jak IP-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  oraz CXCL8. Wydzielana przez keratynocyty oraz komórki tuczne chemokina CXCL8 jest czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilii. Następstwem opisanej reakcji zapalnej jest powstanie obrzęku, osiagającym szczyt po między 24-48 godz. od ponownej aplikacji antygeny. Następująca po tym terminacja reakcji CS związana jest aktywnością komórek o charakterze regulacyjnym [53].

### 6. Regulacja reakcji nadwrażliwości kontaktowej

Heterogenność mechanizmów efektorowych reakcji CS przekłada się na złożoność mechanizmów negatywnej regulacji. Większość prowadzonych badań, odnosi się do układu w którym komórką efektorową jest limfocyt T CD8+cytotoksyczny, podlegający negatywnemu wpływowi powstających równocześnie limfocytów CD4+ regulacyjnych [39,54]. IL-2 produkowana przez limfocyty T CD8+, wspomaga proliferację populacji komórek regulacyjnych CD4+CD25+ [55]. Mechanizm działania komórek CD4+CD25+ polega na zahamowaniu indukcji CD8+Tef. Następuje to przez eliminację DC na drodze oddziaływania Fas-FasL [56] a także zmniejszenie ilości molekuł kostymulujących na DC poprzez wykorzystanie połączeń szczelinowych między komórkami (gap junction) [57]. Dodatkowo komórki regulacyjne mogą hamować migrację już powstałych Tef do miejsca ponownej ekspozycji na haptenu. Następuje to na drodze zależnej od IL-10 [58] a także poprzez zmniejszenie ekspresji P- oraz E- selektyn na powierzchni śródbłonków przez adenozyne powstającą z ATP dzięki aktywności antygenów CD39 oraz CD79 znajdującym się na komórkach CD4+CD25+ [59].

W reakcji CS CD4-zależnej hamowanie odpowiedzi CS odbywa się z udziałem limfocytów CD8+ regulacyjnych. Wykazano, że kompleksy przeciwciała klasy IgG2a albo IgG2b i antygeny indukują komórki CD8+ regulacyjne hamujące reakcję CS na etapie inicjacji [60]. Dożylnie podanie dużej dawki antygeny stymuluje powstanie w śledzionie limfocytów supresyjnych CD8+ hamujących fazę efektorową CS [61]. Ich mechanizm działania nie jest do końca zdefiniowany, ale wydaje się być zależny od rozpuszczalnej substancji zwanej czynnikiem supresyjnym [62], który jest interfeferencyjnym RNA (siRNA) [63].

## REFERENCES

1. Cher DJ, Mosmann TR. Two types of murine helper T cell clone. II. delayed-type hypersensitivity is mediated by TH1 clones. *J Immunol.* 1987;138:3688-94.
2. Saint-Mezard P, Berard F, Dubois B, Kaiserlian D, Nicolas JF. The role of CD4+ and CD8+ T cells in contact hypersensitivity and allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol.* 2004;14:131-8.
3. Campos RA, Szczepanik M, Itakura A, Lisbonne M, Dey N, Leite-de-Moraes MC, et al. Interleukin-4-dependent innate collaboration between iNKT cells and B-1 B cells controls adaptive contact sensitivity. *Immunology.* 2006;117:536-47.
4. Kaplan DH, Igyarto BZ, Gaspari AA. Early immune events in the induction of allergic contact dermatitis. *Nature Reviews.* 2012;12:114-24.
5. Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions. *Ann Intern Med.* 2003;139: 683-93.
6. O'Leary JG, Goodarzi M, Drayton DL, von Andrian UH. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nature Immunol.* 2006;7:507-16.
7. Thyssen J, Linneberg A, Menné T, Johansen J. The epidemiology of contact allergy in the general population – prevalence and main findings. *Contact Dermatitis.* 2007;57:287-99
8. Bonamonte D, Foti C, Vestita M, Angelini G. Noneczematous Contact Dermatitis. *ISRN Allergy.* 2013;2013:1-10.
9. Menné T, Johansen JD, Sommerlund M, Veien NK. Hand eczema guidelines based on the Danish guidelines for the diagnosis and treatment of hand eczema. *Contact Dermatitis.* 2011;65: 3-12.
10. Peiser M, Tralau T, Heidler J, Api AM, Arts JHE, Basketter DA, et al. Luch A. Allergic contact dermatitis: epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69:763–81.
11. Lerbaek A, Kyvik KO, Ravn H, Menne T, Agner T. Incidence of hand eczema in a population-based twin cohort: genetic and environmental risk factors. *Br J Dermatol.* 2007;157:552–7.
12. de Jongh CM, Khrenova L, Verberk MM, Calkoen F, van Dijk FJH, Voss H, et al. Loss-of-function polymorphisms in the filaggrin gene are associated with an increased susceptibility to chronic irritant contact dermatitis: a case-control study. *Br J Dermatol.* 2008;159:621–7.
13. Uter W, Geier J, Pfahlberg A, Effendy I. The spectrum of contact allergy in elderly patients with and without lower leg dermatitis. *Dermatology.* 2002;204:266–72.
14. Schnuch A, Brasch J, Lessmann H, Geier J, Uter W. A further characteristic of susceptibility to contact allergy: sensitization to a weak contact allergen is associated with polysensitization. Results of the IVDK. *Contact Dermatitis.* 2007;56:331–7.
15. Schnuch A, Uter W, Reich K. Allergic contact dermatitis and atopic eczema. [In:] *Handbook of atopic eczema.* Ring J, Przybilla B, Ruzicka T (eds), Springer, Berlin, 2006:178–201.
16. Westphal GA, Reich K, Schulz TG, Neumann C, Hallier E, Schnuch A. N-acetyltransferase 1 and 2 polymorphisms in para-substituted arylamine-induced contact allergy. *Br J Dermatol.* 2000;142:1121–7.
17. Westphal GA, Schnuch A, Schulz TG, Reich K, Aberer W, Brasch J, et al. Homozygous gene deletions of the glutathione S-transferases M1 and T1 are associated with thimerosal sensitization. *Int Arch Occup Environ Health.* 2000;73:384–8.
18. Wang BJ, Shiao JS, Chen CJ, Lee YC, Guo YL. Tumour necrotizing factor- $\alpha$  promoter and GST-T1 genotype predict skin allergy to chromate in cement workers in Taiwan. *Contact Dermatitis.* 2007;57:309–15.
19. Reich K, Westphal G, König IR, Mössner R, Krüger U, Ziegler A, et al. Association of allergic contact dermatitis with a promoter polymorphism in the IL16 gene. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:1191–4.
20. Kwangstukstith C, Maibach HI. Effect of age and sex on the induction and elicitation of allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 1995;33:289–98.
21. Hermann-Kunz E. Allergische Krankheiten in Deutschland Ergebnisse einer repräsentativen Studie. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsssch* 2000;43:400–6.
22. Turner SS, Carder MM, van Tongeren MM, McNamee RR, Lines SS, Hussey LL et al. The incidence of occupational skin disease as reported to The Health and Occupation Reporting (THOR) network between 2002 and 2005. *Br J Dermatol.* 2007;157:713-22.
23. Becker D. Allergic contact dermatitis. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2013;11:607-21.
24. Bourke JJ, Coulson II, English JJ. Guidelines for the management of contact dermatitis: an update. *Br J Dermatol.* 2009;160:946-54.
25. Diepgen TL, Andersen KE, Brandao FM, Bruze MM, Bruynzeel DP, Frosch PP and Agner TT, et al. Hand eczema classification: a cross-sectional, multicentre study of the aetiology and morphology of hand eczema. *Br J Dermatol.* 2009;160:353-8.
26. Belsito DV, Wilson DC, Warshaw E, Fowler J, Ehrlich A, Anderson B, et al. A prospective randomized clinical trial of 0,1% tacrolimus ointment in a model of chronic allergic contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55:40–6.
27. Rosen K, Mobacken H, Swanbeck G. Chronic eczematous dermatitis of the hands: a comparison of PUVA and UVB treatment. *Acta Derm Venereol (Stockh).* 1987;67:48–54.
28. Murphy GM, Maurice PD, Norris PG, Morris RW, Hawk JL, et al. Azathioprine treatment in chronic actinic dermatitis: a double-blind controlled trial with monitoring of exposure to ultraviolet radiation. *Br J Dermatol.* 1989;121:639–46.
29. Granlund H, Erkkö P, Eriksson E, Reitamo S. Comparison of the influence of cyclosporine and topical betamethasone-17,21-dipropionate treatment on quality of life in chronic hand eczema. *Acta Derm Venereol (Stockh).* 1997;77:54–8.
30. Lindelof B, Wrangsjö K, Liden S. A double-blind study of Grenz ray therapy in chronic eczema of the hands. *Br J Dermatol.* 1987;117:77–80.
31. Ruzicka T, Lynde CW, Jemec GB, Diepgen T, Berth-Jones J, Coenraads PJ, et al. Efficacy and safety of oral alitretinoin (9-cis retinoic acid) in patients with severe chronic hand eczema refractory to topical corticosteroids: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Br J Dermatol.* 2008;158:808–17.
32. Bos, JD, Meinardi MM. The 500 dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp Dermatol.* 2000;9:165-9.
33. Anderson C, Hehr A, Robbins R, Hasan R, Athar M, Mukhtar H, et al. Metabolic requirements for induction of contact hypersensitivity to immunotoxic polyaromatic hydrocarbons. *J Immunol.* 1995;155:3530-7.
34. Dupuis G. Studies on poison ivy. in vitro lymphocyte transformation by urushiol-protein conjugates. *Br J Dermatol.* 1979;101:617-24.
35. Askenase PW, Szczepanik M, Itakura A, Kiener C, Campos RA. Extravascular T-cell recruitment requires initiation begun by Valpha14+ NKT cells and B-1 B cells. *Trends in Immunol.* 2004;25:441-9.
36. Pomeranz JR. Tolerance to the trinitrophenol ligand in guinea pigs: Studies on the role of the solvent used in feeding. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1986;79:211-4.
37. Nakamura K, Aizawa M. Studies on the genetic control of picryl chloride contact hypersensitivity reaction in inbred rats. *Transplant Proc.* 1981;13:1400-3.
38. Asherson GL, Ptak W. Contact and delayed hypersensitivity in the mouse. I. active sensitization and passive transfer. *Immunology.* 1968;15:405-16.

38. Asherson GL, Ptak W. Contact and delayed hypersensitivity in the mouse. I. active sensitization and passive transfer. *Immunology*. 1968;15:405-16.
39. Hauser C. Cultured epidermal langerhans cells activate effector T cells for contact sensitivity. *J Invest Dermatol*. 1990;95:436-40.
40. Wang B, Fujisawa H, Zhuang L, Freed I, Howell BG, Shahid S, et al. CD4+ Th1 and CD8+ type 1 cytotoxic T cells both play a crucial role in the full development of contact hypersensitivity. *J Immunol*. 2000;165:6783-90.
41. Saint-Mezard P, Berard F, Dubois B, Kaiserlian D, Nicolas JF. The role of CD4+ and CD8+ T cells in contact hypersensitivity and allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol*. 2004;14:131-8.
42. Kaplan DH, Igyarto BZ, Gaspari AA. Early immune events in the induction of allergic contact dermatitis. *Nature Reviews*. 2012;12:114-24.
43. Campos RA, Szczepanik M, Itakura A, Lisbonne M, Dey N, Leite-de-Moraes MC, et al. Interleukin-4-dependent innate collaboration between iNKT cells and B-1 B cells controls adaptative contact sensitivity. *Immunology*. 2006;117:536-47.
44. Itakura A, Szczepanik M, Campos RA, Paliwal V, Majewska M, Matsuda H, et al. An hour after immunization peritoneal B-1 cells are activated to migrate to lymphoid organs where within 1 day they produce IgM antibodies that initiate elicitation of contact sensitivity. *J Immunol*. 2005;175:7170-8.
45. Tsuji RF, Szczepanik M, Kawikova I, Paliwal V, Campos RA, Itakura A, et al. B cell-dependent T cell responses: IgM antibodies are required to elicit contact sensitivity. *J Exp Med*. 2002;196:1277-90.
46. Toews GB, Bergstresser PR, Streilein JW. Epidermal langerhans cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin painting with DNFB. *J Immunol*. 1980;124:445-53.
47. Bobr A, Olvera-Gomez I, Igyarto BZ, Haley KM, Hogquist KA, Kaplan DH. Acute ablation of langerhans cells enhances skin immune responses. *J Immunol*. 2000;185:4724-8.
48. Igyarto BZ, Jenison MC, Dudda JC, Roers A, Muller W, Koni PA, Campbell DJ, et al. Langerhans cells suppress contact hypersensitivity responses via cognate CD4 interaction and langerhans cell-derived IL-10. *J Immunol*. 2009;183:5085-93.
49. Campos RA, Szczepanik M, Itakura A, Akahira-Azuma M, Sidobre S, Kronenberg M, et al. Cutaneous immunization rapidly activates liver invariant Valpha14 NKT cells stimulating B-1 B cells to initiate T cell recruitment for elicitation of contact sensitivity. *J Exp Med*. 2003;198:1785-96.
50. Tsuji RF, Szczepanik M, Kawikova I, Paliwal V, Campos RA, Itakura A, et al. B cell-dependent T cell responses: IgM antibodies are required to elicit contact sensitivity. *J Exp Med*. 2002;196:1277-90.
51. Tsuji RF, Kikuchi M, Askenase PW. Possible involvement of C5/C5a in the efferent and elicitation phases of contact sensitivity. *J Immunol*. 1996;156:4444-50.
52. Kops SK, Van Loveren, H, Rosenstein RW, Ptak W, Askenase PW. Mast cell activation and vascular alterations in immediate hypersensitivity-like reactions induced by a T cell-derived antigen-binding factor. *Laboratory Investigation*. *Lab Invest*. 1984;50:421-34.
53. Tomura M, Itoh K, Kanagawa O. Naive CD4+ T lymphocytes circulate through lymphoid organs to interact with endogenous antigens and upregulate their function. *J Immunol*. 2010;184:4646-53.
54. Kondo S, Beissert S, Wang B, Fujisawa H, Kooshesh F, Stratigos A, et al. Hyporesponsiveness in contact hypersensitivity and irritant contact dermatitis in CD4 gene targeted mouse. *J Invest Dermatol*. 1996;106:993-1000.
55. Kish DD, Gorbachev AV, Fairchild RL. CD8+ T cells produce IL-2, which is required for CD(4+)CD25+ T cell regulation of effector CD8+ T cell development for contact hypersensitivity responses. *J Leukoc Biol*. 2005;78:725-35.
56. Gorbachev AV, Fairchild RL. CD4+CD25+ regulatory T cells utilize FasL as a mechanism to restrict DC priming functions in cutaneous immune responses. *Eur J Immunol*. 2010;40:2006-15.
57. Ring S, Karakhanova S, Johnson T, Enk AH, Mahnke K. Gap junctions between regulatory T cells and dendritic cells prevent sensitization of CD8(+) T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:237-46; e1-7.
58. Ring S, Schafer SC, Mahnke K, Lehr HA, Enk AH. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions by blocking influx of effector T cells into inflamed tissue. *Eur J Immunol*. 2006;36:2981-92.
59. Ring S, Oliver SJ, Cronstein BN, Enk AH, Mahnke K. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions through a CD39, adenosine-dependent mechanism. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123:1287-96; e2.
60. Ptak, W, Janeway CA Jr, Flood PM. Immunoregulatory role of ig isotypes. II. activation of cells that block induction of contact sensitivity responses by antibodies of IgG2a and IgG2b isotypes. *J Immunol*. 1988;141:765-73.
61. Kato K, Askenase PW. Reconstitution of an inactive antigen-specific T cell suppressor factor by incubation of the factor with prostaglandins. *J Immunol*. 1984;133:2025-31.
62. Germain RN, Benacerraf B. Helper and supresor T cell factors. *Springer Semin Immunopathol*. 1980;3:93-127
63. Bryniarski K, Ptak M, Szczepanik M, Askenase PW. Role of low molecular weight RNA in contact sensititivity response- preliminary results. *Centr Eur J Immunol*. 2005;30(Suppl):6