

sFas nie jest markerem chorób atopowych

Soluble Fas is not a marker of atopic diseases

SŁAWOMIR ŻEGLEŃ, BARBARA ROGALA, TOMASZ ZBRANIBORSKI

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Alergologii i Immunologii Klinicznej Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, ul. 3 Maja 13-15, 41-800 Zabrze

Rola antygenów należących do nadrodziny receptorów związanych z czynnikiem martwicy guzów w patofizjologii atopii pozostaje niejasna. Antygeny te, w tym system receptorowy Fas (APO-1/CD95) są ściśle związane z przekazywaniem sygnału apoptozy. Istnieją dane wskazujące na obniżone stężenia formy rozpuszczalnej antygeny Fas (sFas) u chorych atopowych.

Celem pracy była ocena sFas u chorych z różną fenotypową manifestacją atopii.

Do badań włączono 56 chorych atopowych w tym: 21 pacjentów chorych na atopową, epizodyczną astmę oskrzelową, 20 chorych na sezonowy alergiczny nieżyt nosa, 15 chorych na atopowe zapalenie skóry o łagodnym stopniu nasilenia. Grupę kontrolną (K) stanowiło 17 zdrowych osób. Stężenie sFas oznaczano metodą immunoenzymatyczną, a stężenie całkowitego i swoistych IgE (u części badanych) metodą immunofluorescencyjną.

Stężenie sFas we wszystkich grupach chorych było porównywalne (mediana, AS – 9000 pg/mL vs SANN – 9100 pg/mL vs AZS – 8800 pg/mL). Nie stwierdzono także znamiennej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem sFas a stężeniem całkowitego i swoistych IgE w żadnej z analizowanych grup chorych.

Reasumując, nie wykazano, aby sFas była cechą różnicującą dla chorób atopowych.

Alergia Astma Immunologia, 2002, 7(1), 49-54

Słowa kluczowe: choroby atopowe, sFas, apoptoza

The importance of molecules belonging to TNF (tumor necrosis factor)/NGF (nerve growth factor) receptor superfamily in the pathophysiology of atopic disorders is still unclear. The decrease of soluble Fas (sFas/sCD95) concentration - interacting basic signals controlling cell death activation - associated with inhibition of apoptosis processes in atopic constitution is postulated.

The aim of the study was to evaluate the sFas concentration in respiratory atopic disorders and in atopic dermatitis.

The study included 56 atopic subjects: 21 patients with mild atopic bronchial asthma, 20 patients with seasonal rhinitis and 15 with mild atopic dermatitis. Control group consisted of 17 healthy donors. The enzyme immunoassay was used for quantitative determination of soluble Fas in human plasma and enzyme fluoroimmunoassay set for quantitative determination of total and specific IgE.

There was no difference in sFas concentration between the control group and asthmatics, patients with seasonal rhinitis or subjects with atopic dermatitis (median values - respectively: 9000 pg/mL vs 9000 pg/mL or 9100 pg/mL or 8800; $p > 0.05$). No significant relationship between sFas and specific or total IgE was observed.

sFas molecule should not be considered as a marker of atopic diathesis and as a distinctive factor of respiratory atopic disorders or atopic dermatitis.

Alergia Astma Immunologia, 2002, 7(1), 49-54

Key words: atopic disorders, sFas, apoptosis

Antygen błonowy Fas (APO-1/CD95) jest receptorem należącym do nadrodziny związanej z czynnikiem martwicy nowotworów i przekazuje podstawowe sygnały kontrolujące zaprogramowaną śmierć komórki – apoptozę [1,2,3,4,5]. Zjawisko to odgrywa ważną rolę w procesach immunoregulacji. Fas został po raz pierwszy wyizolowany w 1989 roku przez dwie niezależne grupy badaczy, następnie sklonowany (zanalizowany) przez Itoh [6]. Określono go jako błonową molekułę wykazującą aktywność w przekazywaniu sygnału apoptotycznego po przyłączeniu swoistego ligandu (FasL) [6,7,8,9]. Jest to glikoproteina stanowiąca integralną część błony komórkowej o masie cząsteczkowej ok. 50 kD (45-52; 335 reszt ami-

nokwasowych). Antygen Fas występuje w warunkach fizjologicznych na niewielkim odsetku niezaktywowanych komórek T i B krwi obwodowej, ponadto na niewielkim odsetku (ok. 5%) limfocytów NK oraz monocytów. Kilka lat po odkryciu formy błonowej Fas wyizolowano swoisty dla niego ligand (FasL) – białko o zbliżonej masie cząsteczkowej, którego ekspresja jest wzmożona na błonie komórek cytotoksycznych [10]. Komórki te wykazują silne działanie cytotoksyczne w stosunku do wykazujących ekspresję CD95 – np. zainfekowanych wirusem. Mechanizm ten odgrywa istotną rolę w regulowaniu żywotności komórek T zarówno w przebiegu zjawisk immunopatologicznych, jak i fizjologicznej limfoproliferacji [11,12].

Analiza sekwencji nukleotydowej wykazała obecność ludzkiego mRNA dla antygeny Fas kodującego rozpuszczalną formę Fas (sFas), pozbawionego egzonu odpowiedzialnego za syntezę tzw. „domeny przezbłonowej” receptora [13]. Istnieją dane wskazujące, iż sFas może prowadzić do zaburzeń właściwego funkcjonowania wzajemnych interakcji pomiędzy błonowym Fas a jego ligandem – FasL, tym samym powodując zahamowanie apoptozy [14]. Podobnie, jak w przypadku formy błonowej [15,16,17,18], przeważająca większość badań dotyczących formy rozpuszczalnej Fas skupiona jest na ocenie roli sFas w patofizjologii chorób nowotworowych [19,20,21,22], autoimmunologicznych [23,24,25,26] oraz infekcjach wirusowych np. HIV [27].

Dobrze udokumentowano rolę systemu receptorowego Fas/FasL w przekazywaniu sygnałów procesu apoptozy; interakcje pomiędzy jego składowymi są znane. Defekt apoptozy w chorobach nowotworowych ma polegać na upośledzonym funkcjonowaniu tego systemu. Wyniki badań dotyczących oceny stopnia ekspresji antygeny Fas oraz stężenia sFas w przebiegu chorób atopowych są nie liczne. Dane wskazują, iż przekazywanie sygnału apoptozy zachodzi poprzez system receptorowy Fas/FasL przy współdziałaniu receptora TCR stymulowanego swoistym antygenem [28]. Stwierdzono ponadto Fas- zależną „oporność apoptotyczną” aktywowanych (fitohemaglutynina, IL-2) w warunkach *in vitro* komórek T, pochodzących od chorych na astmę oskrzelową [29]. Stwierdzono obniżone stężenia sFas u chorych na sezonowy alergiczny nieżyt nosa oraz astmę oskrzelową w okresie zaostrzenia choroby w porównaniu z okresem stabilnym [30]. Jak wynika z badań [31], pobudzenie receptora Fas poprzez swoiste przeciwciała (*anti-FasR mAb's*), czy rozpuszczalną formę swoistego liganda dla Fas wywołuje apoptozę keratynocytów w skórze chorych na atopowe zapalenie skóry.

W związku więc z udokumentowanym znaczeniem systemu receptorowego Fas/FasL w przekazywaniu sygnału apoptozy limfocytów T i innych komórek kluczowych dla kształtowania alergicznego zapalenia, postanowiliśmy dokonać analizy zachowania się formy rozpuszczalnej antygeny Fas w surowicy u chorych na choroby alergiczne z kręgu atopii.

PACJENCI I METODY

Pacjenci

Badaniami objęto grupę 73 osób w tym: 56 chorych atopowych, spośród których wyróżniono - 20 chorych na sezonowy alergiczny nieżyt nosa w czasie naturalnej ekspozycji alergenowej (10 kobiet, 10 mężczyzn w wieku od 15-52 lat; średnia wieku – 30,7), 21 chorych na atopową astmę oskrzelową epizodyczną w okresie objawowym (10 kobiet, 11 mężczyzn w wieku od 17-69 lat, średnia wieku – 34,5) oraz 15 pacjentów cierpiących na atopowe zapalenie skóry o łagodnym przebiegu (9 kobiet, 6 mężczyzn

w wieku od 19-39 lat; średnia wieku – 25,2). Grupę kontrolną stanowiło 17 zdrowych osób nie wykazujących cech atopii (10 kobiet, 7 mężczyzn w wieku od 20-52 lat; średnia wieku – 25,7).

Do badania kwalifikowano pacjentów spełniających następujące kryteria:

- astma oskrzelowa epizodyczna (wg kryteriów Międzynarodowego Konsensusu do Spraw Rozpoznawania i Leczenia Astmy [32]), w leczeniu której doraźnie stosowano beta-2-mimetyki, ewentualnie steroid wziewny lub
- sezonowy, alergiczny nieżyt nosa, którego objawy kontrolowano podawaniem antyhistaminików (III lub IV generacja) lub
- atopowe zapalenie skóry (wg kryteriów Hanifina i Rajki [33]; ciężkość oceniana wg wskaźnika SCORAD - [34] - index < 30); w leczeniu stosowano miejscowo steroid i środki natłuszczające oraz
- dodatni wynik testów skórnych wobec przynajmniej jednego powszechnie występującego alergenów wziewnego (bąbel \geq 3mm) i
- całkowite stężenie IgE powyżej 50 kU/L.

Do badania nie włączano pacjentów, u których:

- współistniały inne choroby ogólnoustrojowe,
- stosowano kortykoterapię w okresie krótszym niż 6 miesięcy poprzedzającym badanie oraz którzy poddani byli swoistej immunoterapii w okresie krótszym niż 3 lata poprzedzające badania.

Metody

Oznaczanie stężenia sFas

Oznaczenia dokonano stosując metodę immunoenzymatyczną przy użyciu zestawu firmy R & M. SYSTEMS – Quantikine® human sFas ELISA do ilościowego oznaczania rozpuszczalnej formy antygeny Fas w surowicy krwi. Wyniki badań - w odniesieniu do krzywej wzorcowej - podano w pg/mL; czułość metody < 2,5 pg/mL.

Oznaczanie stężenia całkowitej IgE

Całkowite stężenie IgE w surowicy krwi oznaczono, przy użyciu metody fluoroimmunoenzymatycznej (Pharmacia CAP System IgE FEIA, Pharmacia). Wynik podano w kU/L; czułość metody < 2 kU/L.

Oznaczanie stężeń swoistych IgE

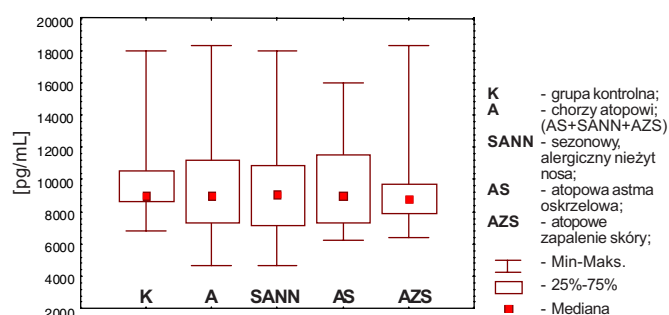
U 24 chorych atopowych oznaczono stężenia swoistych IgE skierowanych przeciw następującym alergenom: d1 – *Dermatophagoides pteronyssinus*, d2 - *Dermatophagoides farinae*, g6 - *Phleum pratense*, g12 - *Secale cereale*, t3 - *Betula verrucosa*, w9 - *Plantago lanceolata*.

Stężenia swoistych IgE oznaczano metodą analogiczną do wcześniej wymienionej metody fluoroimmunoenzymatycznej, stosując zestaw RAST FEIA firmy Pharmacia. Wyniki podano w kU_A/L (A - swoiste przeciwciała).

Zakres wartości od $<0,35$ (klasa 0) do >100 kU_A/L (klasa 6). Czulość metody określa stężenie $<0,35$ kU_A/L. Za wartości znaczące klinicznie i użyte w obliczeniach uznano stężenia mieszczące się w klasie ≥ 2 tj. powyżej 0,69 kU_A/L.

Analiza statystyczna danych

Przy porównywaniu badanych grup pomiędzy sobą oraz z grupą kontrolną zastosowano test U Manna-Whitney'a dla niezależnych prób losowych. W ocenie związków pomiędzy danymi zastosowano test korelacji rang Spearmana. Przyjęto poziom istotności $p < 0,05$ jako znamiennej statystycznie. Obliczeń dokonywano przy użyciu programu Statistica for Windows v. 4,1.



* $p < 0,05$, test U Manna-Whitney'a

Ryc. 1. Stężenie sFas w surowicy badanych grupach oraz w grupie kontrolnej

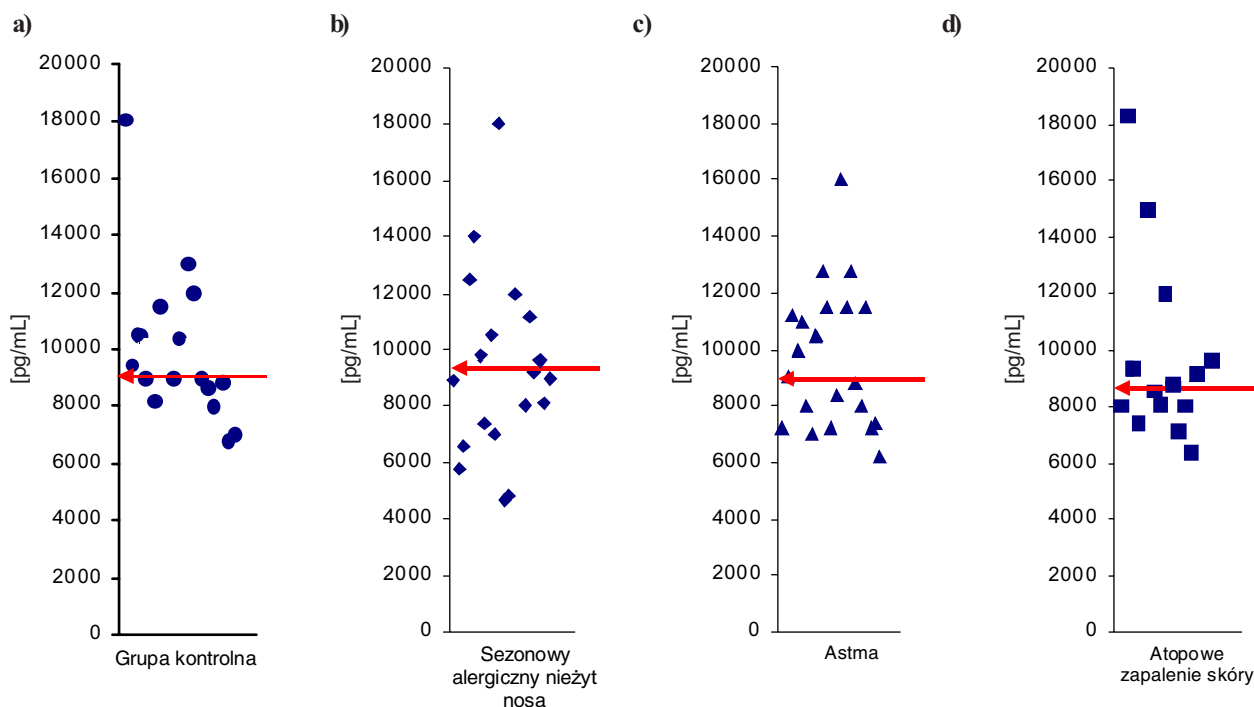
WYNIKI

Ocena stężenia sFas (sAPO-1/sCD95)

Nie stwierdzono znamienych różnic pomiędzy badanymi grupami chorych a grupą kontrolną zarówno, gdy rozpatrywano chorych atopowych łącznie, jak i po uwzględnieniu podziału na grupę cierpiących na sezonowy alergiczny nieżyt nosa oraz atopową astmę oskrzelową i atopowe zapalenie skóry (mediana, chorzy atopowi: 9000 pg/mL vs kontrola: 9000 pg/mL, sezonowy alergiczny nieżyt nosa: 9100 pg/mL vs kontrola: 9000 pg/mL, atopowa astma oskrzelowa: 9000 pg/mL vs kontrola: 9000 pg/mL, atopowe zapalenie skóry: 8800 pg/mL vs kontrola: 9000 pg/mL; $p > 0,05$, test U Manna-Whitneya). Podobnie, nie stwierdzono różnic znamienych statystycznie w stężeniu sFas przy porównywaniu poszczególnych grup badanych chorych (ryc. 1, 2).

Ocena stężenia całkowitej IgE

Stwierdzono znamienne statystycznie wyższe stężenia całkowitej IgE u chorych atopowych. Różnica ta była istotna zarówno, gdy rozpatrywano grupę chorych atopowych łącznie jak i uwzględniając podział na grupy w zależności od rodzaju choroby alergicznej (mediana, chorzy atopowi: 242,5 kU/L, sezonowy alergiczny nieżyt nosa: 205 kU/L, atopowa astma oskrzelowa: 307,5 kU/L, atopowe zapalenie skóry: 186,9 kU/L vs kontrola: 20,5 kU/L;



Ryc. 2. Stężenie sFas w surowicy krwi u osób: a) w grupie kontrolnej, b) z sezonowym alergicznym nieżytem nosa, c) z atopową astmą oskrzelową, d) z atopowym zapaleniem skóry; ← mediana

$p < 0,05$, test U Manna-Whitneya). Nie zanotowano również różnic znamienych statystycznie pomiędzy poszczególnymi badanymi grupami chorych.

Ocena stężeń swoistych IgE

U części chorych atopowych (bez wyszczególniania rodzaju manifestacji klinicznej alergii, $n=24$) dokonano oznaczenia stężeń alergenowo-swoistych IgE. Stwierdzono znamienne klinicznie stężenia IgE swoistych (klasa od 2-4) skierowanych przeciw: *Dermatophagoides pteronyssinus* u 8 chorych atopowych (mediana: 1,49 kU/L), *Dermatophagoides farinae* u 7 chorych (mediana: 1,99 kU/L), *Phleum pratense* u 14 chorych (mediana: 41,25 kU/L), *Secale cereale* u 13 chorych (mediana: 74 kU/L), *Betula verrucosa* u 7 chorych (mediana: 13,3 kU/L), *Plantago lanceolata* u 6 chorych (mediana: 6,39 kU/L).

Ocena zależności pomiędzy sFas a stężeniem IgE w surowicy

Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy stężeniem sFas a stężeniem tIgE w badanych grupach (tab. I). Nie stwierdzono również istotnej zależności pomiędzy stężeniem żadnego ze swoistych przeciwciał skierowanych przeciw wybranym alergenom a stężeniem sFas u chorych atopowych (tab. II).

Tabela I. Korelacje pomiędzy stężeniem sFas (pg/mL) a całkowitym stężeniem IgE w badanych grupach

Badana grupa	Wartość współczynnika korelacji rang Spearman'a	Poziom istotności
Chorzy atopowi łącznie	-0,10	$p > 0,05$
Sezonowy alergiczny nieżyt nosa	-0,17	$p > 0,05$
Atopowa astma oskrzelowa	-0,04	$p > 0,05$
Atopowe zapalenie skóry	-0,16	$p > 0,05$

Tabela II. Korelacje pomiędzy sFas (pg/mL) a stężeniem znamienych klinicznie swoistych IgE ($> 0,69$ kU/L)

Rodzaj alergenu	n	Wartość współczynnika korelacji rang wg Spearmana	Poziom istotności
d1 (<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>)	7	-0,21	$p > 0,05$
d2 (<i>Dermatophagoides farinae</i>)	7	-0,57	$p > 0,05$
g6 (<i>Phleum pratense</i>)	14	-0,07	$p > 0,05$
g12 (<i>Secale cereale</i>)	14	-0,14	$p > 0,05$
t3 (<i>Betula verrucosa</i>)	8	-0,5	$p > 0,05$
w9 (<i>Plantago lanceolata</i>)	6	-0,31	$p > 0,05$

DYSKUSJA

W badaniu porównaliśmy stężenie sFas u chorych na alergię dróg oddechowych (atopową astmę oskrzelową, sezonowy, alergiczny nieżyt nosa) oraz skórą manifestację alergii atopowej (atopowe zapalenie skóry), nie stwierdzając różnic w zachowaniu się tego parametru pomiędzy badanymi grupami chorych.

Dane uzyskane w naszej pracy są sprzeczne z pojedynczymi danymi badawczymi, z których wynika, iż w objawowym okresie sezonowego alergicznego nieżyty nosa dochodzi do obniżenia stężenia sFas, w przeciwieństwie do wyższych stężeń tej cząsteczki u chorych na astmę w okresie objawów choroby [30,35]. Kato stwierdził istotnie niższe stężenie sFas u chorych na alergiczny nieżyt nosa w porównaniu z grupą chorych na astmę oskrzelową oraz z grupą kontrolną. Kolejne badania dowiodły, iż stężenie molekuly sFas może być czynnikiem odróżniającym alergiczny nieżyt nosa od wazomotorycznego [36].

Rozpuszczalna forma antygeny Fas powstaje na bazie alternatywnej transkrypcji mRNA dla Fas i różni się od formy błonowej brakiem domeny usytuowanej wewnątrz błony komórkowej. Jego obecność stwierdzono w supernatantach z kolonii zaktivowanych limfocytów oraz wielu linii komórek nowotworowych [37]. Istnieją dane wskazujące, iż podwyższone stężenie sFas może prowadzić do zaburzeń procesu łączenia się błonowego Fas ze swoistym dla niego ligandem – FasL, tym samym powodując zahamowanie apoptozy i przedłużoną żywotność zarówno limfocytów, jak i komórek nowotworowych [14]. Istnieje zatem teza, iż niższe stężenie sFas zarówno w okresie zaostrzenia choroby, a także w okresie bezobjawowym choroby może świadczyć, iż molekula ta stanowi czynnik ochronny w przebiegu alergicznego zapalenia [14].

Porównywalne stężenie sFas u osób chorych i zdrowych może świadczyć, iż sFas - czynnik bezpośrednio wpływający na interakcję pomiędzy Fas a FasL - nie odgrywa roli w patofizjologii alergicznego zapalenia. Jakże dane świadczą za, a jakie przeciw istotnej roli systemu Fas w alergii?

Na istnienie defektu apoptozy związanego z zaburzeniem interakcji składowych systemu Fas/FasL/sFas w patofizjologii chorób z kręgu atopii mogły wskazywać nie liczne doniesienia, które świadczyły o zmniejszonym stopniu ekspresji systemu receptorowego Fas u chorych atopowych, w oparciu o dane uzyskane czy to poprzez przeprowadzenie analizy stężeń jego formy rozpuszczalnej [30], czy też formy błonowej [29,38]. Dokonano analizy nasilenia procesu spontanicznej śmierci komórki równocześnie z oceną stopnia ekspresji antygeny CD95 (Fas) na limfocytach pochodzących z indukowanej płwociny osób chorych na astmę oskrzelową w trakcie ciężkiego nasilenia objawów chorobowych. Autorzy barwiąc jądra

komórek T za pomocą jodku propionianu i stosując metodę cytometrii przepływową stwierdzili zmniejszony odsetek komórek wykazujących cechy świadczące o zachodzącym procesie apoptozy w porównaniu z grupą osób zdrowych. Zjawisku temu towarzyszyła zmniejszona ekspresja błonowego antygeny CD95 (Fas) u chorych na astmę [39]. Należy podkreślić, iż ewentualny Fas-zależny defekt apoptozy w przebiegu alergicznego zapalenia w astmie oskrzelowej wydaje się potwierdzać zmniejszoną skuteczność swoistej antygenowej aktywacji komórek T – procesu, który jak wcześniej wspomniano wymaga udziału receptora Fas [28].

Istotnym aspektem roli systemu Fas w kształtowaniu alergicznego zapalenia jest antagonizm czynnościowy pomiędzy cytokinami Th2-zależnymi a ekspresją błonowej formy Fas. Zaobserwowano, iż wyższe stężenia sFas towarzyszą Th1 zależnym immunopatologiom np. chorobom autoimmunizacyjnym czy infekcjom wirusowym [40]. Nieznaczne wzmoczenie ekspresji Fas uzyskano po stymulacji anty-CD3. Natomiast, gdy do hodowli dodawano IL-4, obserwowano hamowanie stopnia ekspresji Fas bardziej efektywne u chorych niż u zdrowych osób. W warunkach *in vitro* stymulacja komórek T oczyszczonym alergenem *Dermatophagoides pteronyssinus* powoduje przejściowy wzrost stopnia ekspresji Fas, bez wpływu na proces zaprogramowanej śmierci komórki. Z kolei dodanie do hodowli komórek cytokin typu Th2, takich jak IL-4, IL-5, GM-CSF powoduje zależne od dawki, znamienne i specyficzne obniżenie ekspresji mRNA (*messenger RNA*) dla receptora Fas [41].

Kluczowa rola IL-4 w regulowaniu produkcji immunoglobuliny IgE jest dobrze udokumentowana. W związku z istnieniem przesłanek o hamującym wpływie IL-4 na ekspresję receptora Fas, w badaniu dokonano analizy korelacji pomiędzy stężeniem sFas a systemem IgE. Nie stwierdzono istnienia zależności pomiędzy stężeniem zarówno całkowitego, jak i swoistych IgE a stężeniem sFas w surowicy chorych atopowych, co może stanowić kolejny dowód, iż Fas nie odgrywa roli w kształtowaniu alergicznego zapalenia w przebiegu atopii.

Należy jednak nadmienić, iż dane dotyczące wzajemnej relacji pomiędzy Th2 – zależnymi cytokinami a CD95 są niejednoznaczne. Przeprowadzono analizę wpływu IL-4 na komórki wykazujące znaczną ekspresję swoistego ligandu dla Fas, stwierdzając wyraźnie stymulujący wpływ

tej molekuley na stopień ekspresji FasL na komórkach T, a tym samym na mediowanie procesu apoptozy. Autorzy postulują, iż jest to jeden z podstawowych mechanizmów determinujących przedłużoną żywotność limfocytów T w przebiegu alergicznego zapalenia. Jednocześnie (o czym wspomniano wyżej) stwierdzono, iż sFas może prowadzić do zaburzeń właściwego funkcjonowania wzajemnych interakcji pomiędzy błonowym Fas a FasL, powodując zahamowanie apoptozy [14].

Powyżej przytoczone dane dotyczące błonowej formy Fas i swoistego dla niego ligandu świadczą o istotnej roli systemu receptorowego Fas (także więc pośrednio o sFas) w regulacji żywotności limfocytów i eozynofiliów. Istnieją jednak prace stanowiące istotny kontrargument dla tej tezy. Stosując metodę cytometrii przepływową dokonano analizy procentowego odsetka komórek T wykazujących dodatnią ekspresję antygeny Fas w obrębie limfocytów krwi obwodowej oraz komórek T pochodzących z płukania oskrzelikowo-pęcherzykowego (BAL) osób chorych na astmę oskrzelową. Limfocyty krwi obwodowej wykazywały podobny odsetek komórek wykazujących pozytywną ekspresję CD3+CD95+, zarówno u osób chorych, jak i u zdrowych. Równocześnie oznaczono *in vitro* przy użyciu metody odwróconej reakcji polimerazowej (*reverse transcription polymerase chain reaction* - PCR) stężenie Fas mRNA pochodzącego z komórek T zawartych w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych. Nie stwierdzono ekspresji błonowego Fas zarówno u chorych na astmę oskrzelową, jak i u osób zdrowych. Podobnie, ilość mRNA dla Fas była w tych grupach komórek porównywalna. Także w warunkach *in vitro* poddano limfocyty pochodzące z BAL działaniu IgM anti-Fas – nie uzyskując jednak charakterystycznej dla apoptozy fragmentacji DNA, ocenianej przy użyciu barwienia jodkiem propionianu oraz elektroforezy na żelu agarowym [42]. Wędi wykazał znamienne opóźnienie apoptozy eozynofiliów krwi obwodowej u chorych na atopowe zapalenie skóry, przy niezmienionym stopniu ekspresji błonowej formy receptora Fas [43]. Powyższe obserwacje, negujące znaczenie systemu receptorowego Fas, pośrednio potwierdzają wyniki naszego badania i sugerują zasadność kontynuacji badań, ze szczególnym uwzględnieniem funkcji antygenów należących do nadrodziny receptorów związanych z czynnikiem martwicy guza w regulacji apoptozy w przebiegu alergicznego zapalenia.

Piśmiennictwo

1. Trauth BC, Klas C, Peters AMJ i wsp. Monoclonal antibody - mediated tumor regression by apoptosis. *Science* 1989; 245: 301-305.
2. Rabinowich H, Reichert TE, Kashii Y i wsp. Lymphocyte apoptosis induced by Fas Ligand-expressing ovarian carcinoma cells implications for altered expression of T cell receptor in tumor-associated lymphocytes. *J Clin Invest* 1998; 101: 2579-2588.
3. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM i wsp. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995; 270: 1189-1192.
4. O'Connell J, O'Sullivan GC, Collins JK i wsp. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 1996; 184: 1075-1082.
5. Nagata S. Fas and Fas ligand: a death factor and its receptor. *Adv Immunol* 1996; 57: 129-144.
6. Itoh N, Yonehara S, Ishii A i wsp. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell* 1991; 66: 233-243.
7. Suda T, Nagata S. Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis. *J Exp Med* 1994; 179: 873-879.
8. Bettiol J, Bartsch Y, Louis R i wsp. Cytokine production from peripheral whole blood in atopic and nonatopic asthmatics: relationship with blood and sputum eosinophilia and serum IgE levels. *Allergy* 2000; 55: 1134-1141.
9. Lynch DH, Campbell KA, Miller RE i wsp. FasL/Fas and TNF/TNFR interactions in the regulation of immune response and disease. *Behring Inst Mitt* 1996; 97: 175-184.
10. Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993; 75: 1169-1178.
11. Golstein P. Controlling cell death. *Science* 1997; 275: 1081-1082.
12. Medema JP i wsp. Cleavage of FLICE (caspase-8) by granzyme B during cytotoxic T lymphocyte-induced apoptosis. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3492-3498.
13. Cascino I, Fiucci G, Papoff G i wsp. Three functional soluble forms of the human apoptosis inducing Fas molecule are produced by alternative splicing. *J Immunol* 1995; 154: 2706-2713.
14. Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP i wsp. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994; 263: 1759-1762.
15. Shiraki K, Tsuji N, Shioda T i wsp. Expression of Fas ligand in liver metastases of human colonic adenocarcinomas. *Proc Nat Acad Sci USA* 1997; 94: 6420-6425.
16. Strand S, Hofmann WJ, Hug H i wsp. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells: a mechanism of immune evasion? *Nat Med* 1997; 2: 1361-1370.
17. Hahne M, Rimoldi D, Schroter M i wsp. Melanoma cell expression of Fas (Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 1996; 274: 1363-1369.
18. Walker PR, Saas P, Dietrich PY. Role of Fas ligand (CD95L) in immune escape: the tumor cell strikes back. *J Immunol* 1997; 158: 4521-4527.
19. Hara T, Tsurumi H, Takemura M. i wsp. Serum-soluble fas level determines clinical symptoms and outcome of patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol* 2000; 64: 257-261.
20. Nagao M, Nakajima Y, Hisanaga M i wsp. The alteration of Fas receptor and ligand system in hepatocellular carcinomas: how do hepatoma cells escape from the host immune surveillance in vivo? *Hepatology* 1999; 30: 576-578.
21. Inaba H, Komada Y, Li QS i wsp. mRNA expression of variant Fas molecules in acute leukemia cells. *Am J Hematol* 1999; 62: 150-158.
22. Kamihira S, Yamada Y, Tomonaga M i wsp. Discrepant expression of membrane and soluble isoforms of Fas (CD95/APO-1) in adult T-cell leukaemia: soluble Fas isoform is an independent risk factor for prognosis. *Br J Haematol* 1999; 107: 851-860.
23. Sano H, Asano K, Minatoguchi S i wsp. Plasma soluble Fas and soluble Fas ligand in chronic glomerulonephritis. *Nephron* 1998; 80: 153-161.
24. Nozawa K, Kayagaki N, Tokano Y i wsp. Soluble Fas (APO-1, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1126-1129.
25. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature* 2000; 407: 789-795.
26. Goel N, Ulrich DT, St.-Clair EW i wsp. Lack of correlation between serum soluble Fas/APO-1 levels and autoimmune disease. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1611-1912.
27. Hosaka N, Oyaizu N, Kaplan MH, Yagita H, Pahwa S. Membrane and soluble forms of Fas (CD95) and Fas ligand in peripheral blood mononuclear cells and in plasma from human immunodeficiency virus-infected persons. *J Infect Dis* 1998; 178: 1030-1039.
28. Nagata S, Goldstein P. The Fas death factor. *Science* 1995; 267: 1449.
29. Jayaraman S, Castro M, O'Sullivan M i wsp. Resistance to Fas-mediated T cell apoptosis in asthma. *J Immunol* 1999; 162: 1717-1722.
30. Kato M, Nozaki Y, Yoshimoto T i wsp. Different serum soluble Fas levels in patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Allergy* 1999; 54: 1299-1302.
31. Trautmann A, Akdis M, Kleemann D i wsp. T cell-mediated Fas-induced keratinocyte apoptosis plays a key pathogenetic role in eczematous dermatitis. *J Clin Invest* 2000; 106: 9-10.
32. British Thoracic Society: Guidelines on the management of asthma. *Thorax* 1993; 83: 477-485.
33. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Dermatovener* 1980; 92: 44-47.
34. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity Scoring of Atopic Dermatitis: The SCORAD Index. *Dermatology* 1993; 186: 23-31.
35. Grzegorzczak J. Apoptoza a alergja. *Alergia Astma Immunologia* 2000; 5 (Supl 2): 61-64.
36. Kato M, Hattori T, Ito H, Kageyama M i wsp. Serum-soluble Fas levels as a marker to distinguish allergic and nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:1213-1214.
37. Owen-Schaub LB, Angelo LS, Radinsky R i wsp. Soluble Fas/APO-1 in tumor cells: a potential regulator of apoptosis? *Cancer Lett* 1995 Jul 20; 94: 1-8.
38. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88: 355.
39. Hamzaoui A, Hamzaoui K, Salah H, Chabbou A. Lymphocytes apoptosis in patients with acute exacerbation of asthma. *Mediators Inflamm* 1999; 8: 237-243.
40. Mountz JD, Cheng J, Su X, Wu J, Zhou T. Autoimmunity, apoptosis defects and retroviruses. *Adv Exp Med Biol* 1995; 374: 183-201.
41. Spinozzi F, Agea E, Fizzotti M i wsp. Role of T-helper type 2 cytokines in down-modulation of fas mRNA and receptor on the surface of activated CD4(+) T cells: molecular basis for the persistence of the allergic immune response. *FASEB J* 1998; 12: 1747-1753.
42. Spinozzi F, Fizzotti M, Agea E i wsp. Defective expression of Fas messenger RNA and Fas receptor on pulmonary T cells from patients with asthma. *Ann Intern Med* 1998; 128: 363-369.
43. Wedi B, Raap U, Lewrick H, Kapp A. Delayed eosinophil programmed cell death in vitro: a common feature of inhalant allergy and extrinsic and intrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 536-543.