

ARTICOL DE CERCETARE

Profilul imunoglobulinelor IgA, IgG, IgM și IgE totală și cel al citokinelor IL-2, IL-4, TNF- α în serul sanguin, în funcție de severitatea, formele lezionale și cele IgE-asociate ale dermatitei atopice: studiu caz-control

Nadejda Dolma^{1†}, Lucia Andries^{2†}, Mircea Bețiu^{3†}

¹Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova;

²Laboratorul de alergologie și imunologie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

³Catedra de dermatovenerologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 14.09.2017
Data acceptării spre publicare: 30.11.2017

Autor corespondent:

Nadejda Dolma, medic-dermatovenerolog
Institutul Mamei și Copilului
str. Burebista, 93, Chișinău, Republica Moldova, MD-2062
e-mail: nadin.virlan@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Evoluția dermatitei atopice (DA), în mare măsură, depinde de răspunsul imun. Studiile existente comunică rezultate controversate referitor la implicarea factorilor imuni umorali și celor nespecifici în geneza și evoluția DA.

Ipoteza de cercetare

Descrierea particularităților verigii imune umorale ale DA ar facilita identificarea unor forme lezionale particulare ale maladiei, cu adaptarea, în consecință, a tratamentului imuno-modulator.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Au fost determinate concentrațiile serice ale IgA, IgG, IgM și IgE totală, precum și cele ale IL-2, IL-4, TNF- α , în funcție de severitatea, formele lezionale și cele IgE-asociate ale dermatitei atopice la copii de 0-2 ani și de 2-18 ani, comparativ cu grupele de vârstă similare, practic sănătoase.

Rezumat

Introducere. Studiile privind particularitățile răspunsului imun în diverse forme evolutive ale dermatitei atopice (DA) la pacienți de diferită vârstă au un caracter controversat. Facto-

RESEARCH ARTICLE

Serum profiles of immunoglobulin IgA, IgG, IgM, total IgE, and IL-2, IL-4, TNF- α cytokines, depending on severity, lesional and IgE-associated forms of atopic dermatitis: case-control study

Nadejda Dolma¹, Lucia Andries², Mircea Bețiu³

¹Mother and Child Institute, Chisinau, Republic of Moldova;

²Laboratory of allergology and clinical immunology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

³Chair of dermatovenerology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 14.09.2017
Accepted for publication on: 26.05.2017

Corresponding author:

Nadejda Dolma, dermatologist-venerologist
Mother and Child Institute
93, Burebista str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2062
e-mail: nadin.virlan@gmail.com

What is not known yet, about the topic

The evolution of atopic dermatitis (AD) is largely dependent on the nature of the immune response. Existent studies in this field show controversial outcomes regarding the involvement of humoral and non-specific immune factors in the genesis and evolution of the pathology.

Research hypothesis

Characterization of humoral immune chain of AD would facilitate identification of particular lesional forms of the disease, which would allow to adapt the immune-modulatory treatment.

Article's added novelty on this scientific topic

Serum concentrations of IgA, IgG, IgM and total IgE were determined as well as levels of IL-2, IL-4, TNF- α , depending on IgE association, the severity and lesional form of the disease in children aged 0-2 years and 2-18 years, comparing healthy children of similar age.

Abstract

Introduction. Studies on the particularities of the immune response in various evolutionary forms of AD in patients of different ages are controversial. Immune factors play a decisive

rii imuni au un rol decisiv în evoluția DA. Descrierea particularităților verigii umorale ale DA ar facilita identificarea unor forme lezionale particulare ale maladiei, cu adaptarea, în consecință, a tratamentului imunomodulator.

Material și metode. Studiul de tip caz-control, a inclus 110 pacienți cu dermatită atopică și 110 copii „aparent sănătoși”, repartizați în grupe de vârstă sub 2 ani (lotul I) și de la 2 la 18 ani (lotul II). Prin metodă imunoenzimatică, a fost dozat nivelul imunoglobulinelor IgA, IgG, IgM și IgE-totale, precum și profilul citokinic (IL-2, IL-4, TNF- α) în serul sanguin, în funcție de severitatea maladiei (SCORAD), de formele ei lezionale și de cele IgE- asociate ale maladiei.

Rezultate. Studiul relevă micșorarea nivelului de IgA serică, majorarea IgE totală și a citokinelor IL-2, IL-4, TNF- α , în comparație cu loturile martor respective. Aceste devieri au fost exprimate mai evident la bolnavii cu vârsta peste 2 ani (lotul II) în formele grave și moderate. S-a observat majorarea semnificativă pentru TNF- α și mai puțin exprimată pentru IL-2 în forma exudativă a maladiei (ambele loturi). Creșterea IL-4 a fost mai evidentă în formele lichenificate (lotul II). Tendința evolutivă pentru TNF- α a fost ascendentă pentru forma exudativă la copiii peste 2 ani (lotul II) și una descendentă – la cei sub 2 ani (lotul I). S-au observat corelații pozitive semnificative dintre IgE totală și IL-4 în forma eritemato-scuamoasă și forma eritemato-scuamoasă lichenificată. Corelații negative – dintre IgE totale și TNF- α în forma gravă a DA și dintre IL-4 și TNF- α – în forma exudativă a dermatitei atopice. O diferență notabilă a indicilor citokinelor (IL-2, IL-4, TNF- α) și a imunoglobulinelor (IgA, IgG, IgM) în grupele de vârstă la bolnavii cu dermatita atopică extrinsecă și cea intrinsecă nu a fost evidențiată. Totodată, s-a constatat scăderea indicilor IgA în ambele loturi, mai evidentă în forma intrinsecă. Dinamica IgE totale a fost net ascendentă în forma extrinsecă. S-a remarcat o creștere a indicilor IL-2 și TNF- α odată cu vârsta; devierile de vârstă ale IL-4 prezentând o tendință de majorare în forma extrinsecă și una de scădere – în forma intrinsecă a DA.

Concluzii. A fost demonstrată o tendință de evoluție bifazică a răspunsului imun la bolnavii cu dermatită atopică care, în formele incipiente (sub 2 ani), eritemato-scuamoase și exudative, extrinsece, este preponderent de tip Th2, cu majorarea IgE totale și a IL-4. În formele de stare (peste 2 ani), cu lichenificare, cele intrinseci, răspunsul imun a fost de tip Th1 (majorarea TNF- α , IL-2).

Cuvinte cheie: dermatita atopică, evoluția, clinica, statutul imun, citokine proinflamatorii.

Introducere

Dermatita atopică (DA) reprezintă o maladie multifactorială, cronică-recidivantă, care afectează 15-30% din populația pediatrică [1]. La copii, din totalul maladiilor alergice, ponderea DA constituie 50-70% [2, 3, 4]. Patogenia acesteia rezultă din interacțiunile factorilor ereditari și dobândiți ai bolnavului, perturbări ale barierei cutanate (ipoteza „outside-in”), anomalii imune (ipoteza „inside-out”). Conform opiniei unor

role în AD evoluția, facilitând dezvoltarea de tulburări patologice. Caracteristicile lanțului umoral influențează stabilirea formelor lezionale care ar fi utile pentru selecția de imunomodulatori.

Material and methods. The case-control study included 110 AD patients and 110 “apparently healthy” children, assigned to age groups under 2 years of age (group I) and 2 to 18 years (group II). The serum IgA, IgG, IgM and IgE-total immunoglobulin levels as well as the cytokine profile (IL-2, IL-4, TNF- α) were determined using immuno-enzymatic methods, and divided according to the severity of the disease (SCORAD), lesional forms and IgE-associated forms of the disease.

Results. The study revealed a decrease in serum levels of IgA, an increase in total IgE and serum IL-2, IL-4, TNF- α levels compared to the respective control groups. These deviations were more pronounced in patients over the age of 2 years (group II) in severe and moderate forms. Significant increase for TNF- α and less expressed for IL-2 in exudative form (both groups) was observed, the increase of IL-4 being more evident in the lichenified forms of AD (group II). The evolutionary trend for TNF- α was ascending for exudative form in children over 2 years (group II) and descending in those under 2 years of age (group I). Significant positive correlations between total IgE and IL-4 in erythematous and lichenified erythematous forms were observed; negative correlations between total IgE and TNF- α in severe forms and between IL-4 and TNF- α in the exudative form of AD. A notable difference in the cytokine (IL-2, IL-4, TNF- α) and immunoglobulin (IgA, IgG, IgM) indices in age groups in patients with extrinsic and intrinsic AD was not observed. At the same time, there was a decrease in IgA indices in both groups, more evident in intrinsic form, the IgE-total dynamics being net ascending in extrinsic form. An increase in age-related IL-2 and TNF- α indices has been noted, IL-4 age deviations exhibiting an increase in extrinsic and decrease in intrinsic form.

Conclusions. A biphasic evolutionary trend of immune response in patients with AD has been demonstrated, which is predominantly Th2-type with total IgE and IL-4 increase, in early stages (under 2 years), which presents more frequently in its erythematous and exudative, extrinsic forms. In active forms (over 2 years), with lichenification, intrinsic forms, the immune response was of Th1 type (TNF- α , IL-2 increase).

Key words: atopic dermatitis, evolution, clinic, immune status, pro-inflammatory cytokines.

Introduction

Atopic dermatitis (AD) is a multi-factorial, chronic-relapsing disorder affecting 15-30% of the pediatric population [1], representing 50-70% of all children's allergic diseases [2, 3, 4]. Its pathogenesis results from interactions of the hereditary and acquired factors of the patient, disturbances of the skin barrier (the “outside-in” hypothesis), immune abnormalities (the “inside-out” hypothesis). According to the opinion of

autori, DA "inside-out" se caracterizează printr-o hiperplazie reactivă epidermală și, în primul rând, a limfocitelor Th2, iar cea "outside-in" este determinată de defecte genetice ale barierei cutanate [5], cu perturbări în diferențierea keratinocitelor și cu stimularea sistemului imun [6, 7, 8].

Astfel, mecanismul imunopatologic în DA este unul complex, bifazic, cu implicarea Th1 și Th2, fiind, în esență, concurent. Este exprimat clinic prin succesiunea leziunilor exudative acute, caracteristice pentru răspunsul Th2, cu leziuni infiltrative cronice, ce țin de răspunsul Th1 [9, 10, 11]. Dezechilibrul limfocitelor în stadiul acut și în cel cronic se asociază cu hiperproducerea IgE totale în 50-80% din cazuri, cu activarea celulelor Langerhans (CLs), degranularea mastocitelor. Finalul este reprezentat de un proces autoimun (cu anticorpi tip IgE) contra proteinelor epidermale [9, 12, 13].

Aprecierea severității DA se face conform sistemului de evaluare SCORAD, care stabilește forma ușoară, moderată sau severă a maladiei [14]. La copiii cu vârste între 0 și 5 ani, forma ușoară a DA se prezintă în 63,7-80,0% din cazuri, cea moderată – în 10,3-24,0%, cea severă – în 1,6-2,0% de cazuri și extrem de severă – în 0,3% din cazuri. Eritrodermia Hill se atestă în 2,2-2,4% din cazuri, la sugari, și în 12,6% din cazuri – la adolescenți [15, 16, 17].

În funcție de concentrația serică a IgE totale, DA este separată în două forme: extrinsecă, DAe (70-80%), cu nivele majore de IgE și cea intrinsecă DAi (20-30%), cu nivele normale de IgE totală, cu debut și sensibilizări specifice mai tardive [18, 19, 20]. DAe este dirijată de sensibilizări la alergeni alimentari și/sau aeroalergeni, agenți microbieni sau autoantigeni și are un pronostic mai puțin favorabil pe termen lung, comparativ cu DAi [21, 22, 23]. Sensibilizarea specifică la bolnavii cu DAe prezintă fundalul favorizant pentru dezvoltarea reacțiilor alergice sistemice [2].

Concomitent, în DAe vs. DAi, se constată un profil citokinic antagonist [24, 25, 26] atât în torentul sangvin, cât și în pielea afectată [7, 19, 21]. Prin urmare, DAe, indusă de factorii de mediu, se caracterizează prin nivele crescute de IL-4 și IL-13, acestea fiind responsabile de sinteza IgE totală și, respectiv, de reacția de hipersensibilitate de tip I [21]. DAi, influențată de factori ereditari, este mai puțin asociată cu dinamica IL-4 și IL-13, ceea ce confirmă lipsa hipersensibilizării mediate de IgE totală [7, 9, 23]. Eventual, cumularea acțiunii de sensibilizare alergică în DAi poate facilita trecerea acesteia în DAe [23].

Reeșind din faptul că factorii imunologici și cei citokinici sunt implicați în evoluția procesului patologic al DA, monitorizarea indicilor respectivi ar putea prezenta un suport util pentru tratamentul imunomodulator [27, 28, 29].

Material și metode

Studiul a fost realizat în Institutul Mamei și Copilului pe parcursul anilor 2012-2015. În cercetare, au fost incluși 110 pacienți cu DA (lotul de bază) și 110 copii „aparent sănătoși” (lotul martor). Loturile de studiu au împărțite în subloturi, în funcție de vârstă: până la 2 ani (lotul I) și 2-18 ani (lotul II). Au fost incluși doar pacienții cu DA izolată; prezența comorbidităților a reprezentat criteriul de excludere.

authors, AD's "inside-out" is characterized by a reactive epidermal hyperplasia and primarily Th2 lymphocytes, and the "outside-in" is guided by genetic defects of the skin barrier [5], resulting in disturbances in differentiating keratinocytes and stimulating the immune system [6, 7, 8].

Thus, the immune-pathological mechanism in AD is a complex, biphasic, with Th1 and Th2 involvement, being essentially concurrent and clinically expressed by successive acute exudative lesions characteristic for the Th2 response with chronic infiltrative lesions associated with the Th1 response [9, 10, 11]. Imbalance of lymphocytes in acute and chronic phases is associated with IgE-total hyperproduction in 50-80% of cases, activation of Langerhans cells (LCs), degranulation of mast cells, finally triggering an autoimmune (IgE antibody) against epidermal proteins [9, 12, 13].

The severity of AD is assessed according to the SCORAD evaluation system, which is designed to assess the sensitivity and specificity for various diseases (mild, moderate and severe) [14]. The mild form of AD in children aged 0-5 years is present in 63.7-80.0% of cases, moderate – 10.3-24.0% severe – 1.6-2.0% and extremely severe – 0.3%, Hill erythrodermia is observed in 2.2-2.4% of infants and 12.6% in teenagers [15, 16, 17].

Depending on the serum IgE concentration, AD is divided into two forms: extrinsic, ADe (70-80%) with increased levels of IgE and intrinsic, ADi (20-30%) with normal levels of total IgE, with late onset and specific sensitization [18, 19, 20]. ADe is directed by sensitization to food allergens and/or air allergens, microbial or autoantigenic agents and has a less favorable long-term prognosis of life compared to ADi [21, 22, 23]. The specific sensitization in patients with ADe presents the background for the development of systemic allergic reactions [2].

Concurrently, in ADe, compared to ADi, a cytokine antagonist profile is present [24, 25, 26] and is found in both the bloodstream and the affected skin [7, 19, 21]. Therefore, ADe, driven by environmental factors, is characterized by increased levels of IL-4 and IL-13, which are responsible for the synthesis of IgE-total and type I hypersensitivity reactions [21], respectively. ADi, is influenced by hereditary factors, is less associated with IL-4 and IL-13 dynamics, which confirms the lack of mediated IgE hypersensitivity [7, 9, 23]. Eventually, by cumulating the allergen sensitization action ADi can facilitate its passage into ADe [23].

Based on the fact that immunological and cytokine factors are involved in the evolution of the pathological process of AD, monitoring of these indices is a support in modulation of the immune response [27, 28, 29] in its therapy.

Material and methods

The study was conducted within the Mother and Child Institute during 2012-2015. In the research, 110 patients with AD (baseline) and 110 "apparently healthy" children (control group), respectively, were assigned to age groups up to 2 years (group I) and 2-18 years (group II). No patients with AD and associated pathology were included.

Stabilirea diagnosticului clinic al dermatitei atopice s-a efectuat conform criteriilor Hanifin J. și Rajka G. (1980) [30]. Severitatea maladiei s-a calculat conform scorului SCORAD [14]. Nivelul imunoglobulinelor (IgA, IgG, IgM și IgE) și profilul citokinic (IL-2, IL-4 și TNF- α) în serul sanguin a fost dozat prin metoda imunoenzimatică ELISA. S-a luat în considerație severitatea DA, formele lezionale și asocierea cu IgE ale maladiei.

Datele primare au fost numerizate și analizate statistic cu soft-ul *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows*, versiunea 6. Datele sunt prezentate sub formă de medie și eroare standard. Teste statistice aplicate: t-Student, Wilcoxon și coeficientul de corelație Spearman' rho (rs). Un $p < 0,05$ a fost considerat statistic semnificativ.

Rezultate

Debutul DA la vârsta de 2-6 luni s-a constatat în 81 (71,0%) de cazuri. Durata maladiei a oscilat de la 3 săptămâni până la 15 ani. Anamneza familială pozitivă s-a constatat la 67 (60,9%) de pacienți, dintre care, pe linie maternă – 34 (30,9%) de cazuri, pe cea paternă – 24 (21,8%) de cazuri. Din partea ambilor părinți, anamneza familială pozitivă a fost constatată în 9 (8,2%) cazuri.

Forma clinică eritemato-scuamoasă a DA s-a observat în 23 de cazuri (lotul I – 10; lotul II – 13); forma eritemato-scuamoasă lichenificată – în 37 de cazuri (toate – în lotul II); forma exudativă – în 34 de cazuri (lotul I – 24; lotul II – 10). DA de tip prurigo Besnier – în 16 cazuri (toate – în lotul II).

Conform indicelui SCORAD (iSc), au fost constatate următoarele forme clinice: ușoară (iSc < 20) – 23 (20,9%) de cazuri (lotul I – 5; lotul II – 18), $iSc = 18,48 \pm 0,48$, $p < 0,05$; moderată (iSc 20-40) – 67 (60,9%) de cazuri (lotul I – 19; lotul II – 48), $iSc = 33,71 \pm 0,53$, $p < 0,05$; gravă (iSc > 40) – 20 (18,2%) de cazuri (lotul I și II – câte 10 cazuri), $iSc = 54,44 \pm 2,28$, $p < 0,05$.

Din totalul pacienților, forma extrinsecă (asociată cu elevarea IgE totală) a DA s-a observat la 65 (59,1%) de pacienți, respectiv, în lotul I – 15 și în lotul II – 50 de cazuri; cea intrinsecă – la 45 (40,9%) de pacienți, respectiv, în lotul I – 19 și în lotul II – 26 de cazuri.

Cercetarea statusului imun umoral al pacienților lotului de bază, comparativ cu lotul martor, a demonstrat modificări diverse ale concentrației serice a imunoglobulinelor claselor A, E totală și citokinelor IL-2, IL-4, TNF- α ; valorile medii ale concentrațiilor lor serice sunt prezentate în Tabelul 1.

The clinical diagnosis of atopic dermatitis was performed according to the Hanifin J. and Rajka G. (1980) criteria [30]. The severity of the disease was calculated according to SCORAD score [14]. The level of immunoglobulins (IgA, IgG, IgM and IgE) and the cytokine profile (IL-2, IL-4 and TNF- α) in blood serum was performed by ELISA immune-enzymatic method. The severity of AD, lesions and association with IgE of the disease was taken into consideration.

Primary data was mathematically and statistically analyzed using the *Statistical Package for Social Science (SPSS) for Windows* soft, version 6. Data is presented as mean values and standard error. Statistical tests applied: t-Student, Wilcoxon, Spearman' rho correlation coefficient (rs). A p value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results

The onset of the disease was found in 81 cases (71.0%) at 2-6 months of age. The duration of the illness fluctuated from 3 weeks to 15 years. The positive family history was found in 67 (60.9%) patients, including 34 (30.9%) maternal cases, 24 (21.8%) paternal cases. Both parents were implied in 9 (8.2%) cases.

The clinical form of erythematous-squamous AD was observed in 23 cases (group I – 10, group II – 13), lichenified erythematous-squamous form – 37 cases (group II), exudative form – 34 (group I – 24, group II – 10) and 16 cases of Besnier prurigo (group II).

According to the SCORAD index (Sci), the following clinical forms were found: mild form with Sci below 20 – 23 (20.9%) cases (group I – 5 cases, group II – 18 cases), $Sci = 18.48 \pm 0.48$, $p < 0.05$; moderate form (Sci 20-40) in 67 (60.9%) cases (group I – 19, group II – 48), $Sci = 33.71 \pm 0.53$, $p < 0.05$; serious form (Sci above 40) – 20 (18.2%) cases (10 cases each group), $Sci = 54.44 \pm 2.28$, $p < 0.05$.

Of all patients, extrinsic form (associated with IgE-total elevation) was observed in 65 (59.1%) patients, respectively in group I – 15 patients and in lot II – 50 cases and intrinsic to 45 (40.9%) patients, respectively in group I – 19 and in lot II – 26 cases.

Investigation of the humoral immune status of patients in the baseline group compared to the control group demonstrated different changes in the serum concentration of the A, E-class total immunoglobulins and IL-2, IL-4, TNF- α cytokines

Tabelul 1. Valorile medii ale imunoglobulinelor serice la bolnavii cu DA în lotul I și lotul II.

Table 1. Mean serum immunoglobulin levels in AD patients in group I and group II.

Parametri Parameters	Lotul I (0-2 ani) / Group I (0-2 y.o.)		Lotul II (2-18 ani) / Group II (2-18 y.o.)	
	Lotul cu DA AD group (n=34)	Lotul martor Reference group (n=34)	Lotul cu DA AD group (n=76)	Lotul martor Reference group (n=76)
IgA (g/l)	0.83 \pm 0.11*	1.48 \pm 0.10	0.76 \pm 0.05*	1.56 \pm 0.08
IgG (g/l)	8.69 \pm 0.81**	8.33 \pm 0.53	10.84 \pm 0.37**	10.18 \pm 0.30
IgM (g/l)	1.03 \pm 0.09**	1.06 \pm 0.10	1.73 \pm 0.21**	1.76 \pm 0.21
IgE total (UI/ml)	68.50 \pm 16.63*	5.67 \pm 1.52	157.04 \pm 20.63*	25.68 \pm 4.16

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu lotul martor: * – $p < 0,05$; ** – $p > 0,05$.

Note: statistical significant differences comparatively with the control group: * – $p < 0.05$; ** – $p > 0.05$.

Conform datelor din Tabelul 1, atât la pacienții lotului I, cât și la cei din lotul II, s-a constatat o scădere de, respectiv, 1,8 și 2,05 ori a imunoglobulinei de clasa A, comparativ cu copiii aparent sănătoși (lotul martor). Concomitent, a fost stabilită și o creștere de, respectiv, 12,1 și 6,1 ori (statistic semnificativă) a IgE totale pentru pacienții lotului I și II vs. loturile martor.

Pentru citokinele studiate, au fost stabilite creșteri esențiale în ambele loturi vs. lotul martor, dar mai evidente în lotul II, comparativ cu lotul I (Figura 1). Astfel, la pacienții din lotul II s-au constatat modificări mai evidente atât a IgE totală, cât și a IL-2, IL-4, TNF- α , fapt ce demonstrează implicarea acestora în procesul patologic local.

Rezultatul studiului perturbărilor imune la pacienții lotului I cu diverse forme lezionale ale DA este prezentat în Tabelul 2.

Conform formelor lezionale ale DA, în grupele de vârstă s-a constatat micșorarea nivelelor de IgA de 1,4 și, respectiv, de 2 ori în forma eritemato-scuamoasă și cea exudativă din lotul I; idem, IgA s-a micșorat la pacienții din lotul II – de 1,7 ori în forma eritemato-scuamoasă, de 2,1 ori – în forma eritemato-scuamoasă lichenificată, de 3,5 ori – în forma exudativă și de

[21, 29, 34]. The mean values of immunoglobulins and serum cytokines in patients in the age groups as compared to the control group are shown in Table 1.

According to the data elucidated in Table 1, there was a 1.8 and 2.05 fold decrease of IgA and a total IgE increase of 12.1 and 6.1 times (statistically significant) in patients in both groups compared to the control group.

For the cytokines studied, essential increases were recorded in both groups compared to the control groups, but more obvious increases were noted in group II compared to group I (Figure 1). Thus, patients from group II had more obvious increases of both total IgE, as well as IL-2, IL-4, TNF- α , fact that demonstrate their local involvement in the pathological process.

Immune disturbances in patients of group I with various lesional forms are illustrated in Table 2.

According to the lesional forms of AD in different age groups, the IgA indices decreased 1.4 and 2 times respectively in the erythematous-squamous and exudative forms of group I and decreased 1.7 times in the erythematous-squamous

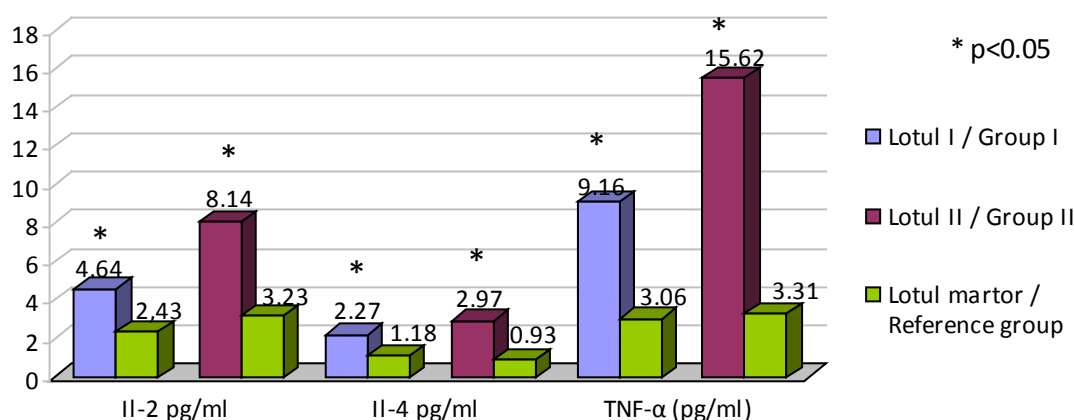


Fig. 1 Valorile medii ale citokinelor serice (IL-2, IL-4, TNF- α) la bolnavii cu DA în grupele de vârstă (lotul I și lotul II).
Fig. 1 The mean serum cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) in AD patients in different age groups (group I and group II).

Tabelul 2. Nivelele imunoglobulinelor și citokinelor circulante la copiii din lotul I (0-2 ani), cu dermatită atopică, în funcție de aspectul lezional al maladiei.

Table 2. Mean values of immunoglobulins and circulating cytokines in children from group I (age 0-2), with AD according to the lesional aspect of the disease.

Parametri Parameters	Lot martor Reference group (n=34)	Forma eritemato-scuamoasă Erythema-squamous form (n=10)	Forma exudativă (veziculo-crustoasă) Exudative form (vesiculo-crustaceous) (n=24)
IgA, g/l	1.48±0.10	1.07±0.24**	0.74±0.13*
IgG, g/l	8.33±0.53	8.65±1.43**	7.95±0.99**
IgM, g/l	1.06±0.10	1.35±0.30**	1.10±0.15**
IgE total, UI/ml	5.67±1.52	65.60±44.22**	115.58±28.5*
IL-2, pg/ml	2.43±0.50	5.10±1.76**	5.78±1.11*
IL-4, pg/ml	1.18±0.22	1.15±0.24**	3.95±0.64*
TNF- α , pg/ml	3.06±0.46	12.35±2.94*	9.00±1.33*

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu lotul martor: * – p<0,05; ** – p>0,05.

Note: statistically significant differences compared to the control group: * – p<0.05; ** – p>0.05.

Tabelul 3. Nivelele imunoglobulinelor și citokinelor circulante la copiii din lotul II (2-18 ani), cu dermatită atopică, în funcție de aspectul lezional al maladiei.

Table 3. Values of immunoglobulins and circulating cytokines in children from group I (age 0-2), with AD according to the lesional aspect of the disease.

Parametri Parameters	Lot martor Reference group (n=76)	Forma eritemato-scuamoasă Erythema-squamous form (n=13)	Forma eritemato-scuamoasă lichenificată Erythema-squamous form with lichenification (n=37)	Forma exudativă Exudative form (n=10)	Forma tip prurigo Besnier Besnier prurigo form (n=16)
IgA, g/l	1.56±0.08	0.92±0.14*	0.76±0.07*	0.45±0.07*	0.82±0.14*
IgG, g/l	10.18±0.30	10.88±0.71**	10.42±0.54**	9.21±1.32**	8.00±0.94*
IgM, g/l	1.76±0.21	1.15±0.08*	1.95±0.34**	1.82±0.97**	0.96±0.10*
IgE, U/ml	25.68±4.16	150.93±33.98*	129.70±34.6*	73.81±18.44*	113.04±36.44*
IL-2, pg/ml	3.23±0.46	8.57±2.69**	7.26±0.88*	8.01±2.27*	10.33±2.44*
IL-4, pg/ml	0.93±0.15	4.41±0.96*	4.63±0.56*	3.53±0.96*	4.45±0.73*
TNF-α, pg/ml	3.31±0.33	11.69±2.19*	8.98±1.07*	19.97±4.85*	11.29±1.90*

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu lotul martor: * – p<0,05; ** – p>0,05.

Note: statistically significant differences compared to the control group: * – p<0.05; ** – p>0.05.

1,9 ori – în cea de tip prurigo Besnier. E de menționat scăderea evidentă a nivelului IgA în forma exudativă a DA. Nivelele de IgG și IgM, în ambele loturi, s-au prezentat cu modificări nesemnificative (p>0,05), excepție fiind cele pentru IgG și pentru IgM în forma de tip prurigo Besnier, și pentru IgM – în forma eritemato-scuamoasă la pacienții din lotul II, valorile medii ale acestora micșorându-se de 1,3 și 1,8 ori și, respectiv, de 1,5 ori, în comparație cu lotul martor. În lotul II (Tabelul 3), se observă creșterea valorilor medii pentru IgE totală în toate formele clinice lezionale: de 5,9, 5, 2,9 și, respectiv, de 4,4 ori, acestea fiind amplificate semnificativ, de 20,4 ori, în forma exudativă din lotul I, comparativ cu lotul martor.

Valorile medii ale TNF-α au fost majorate de 4 și de 2,9 ori în forma eritemato-scuamoasă și, respectiv, cea exudativă, la pacienții din lotul I; valorile IL-2 și IL-4 fiind în creștere de 2,4 și, respectiv, de 3,4 ori – în forma exudativă, comparativ cu lotul martor (Figura 2).

Analiza concentrațiilor citokinelor serice din lotul II a rele-

form, 2.1 times in lichenified erythemato-squamous form, 3.5 times in exudative form and 1.9 times in the Besnier prurigo type from group II. Noteworthy, an apparent decrease in IgA level in exudative form in patients from group II was noted. Levels of IgG and IgM in both groups showed minor changes (p>0.05), except for IgG and IgM in Besnier prurigo form and IgM in erythemato-squamous form in patients from group II, their average values decreased by 1.3 and 1.8 times and by 1.5 times, respectively, compared to the control group. In group II (Table 3), the mean values of total IgE in all lesional clinical forms increased by 5.9, 5, 2.9 and 4.4 times, respectively, and these were significantly increased by 20.4 times in exudative form from group I compared to the control group.

The mean TNF-α values had a 4-fold and 2.9-fold increase in the erythemato-squamous and exudative forms in patients from group I, with the IL-2 and IL-4 index increasing 2.4 and respectively 3.4 times in exudative form compared to the control group (Figure 2).

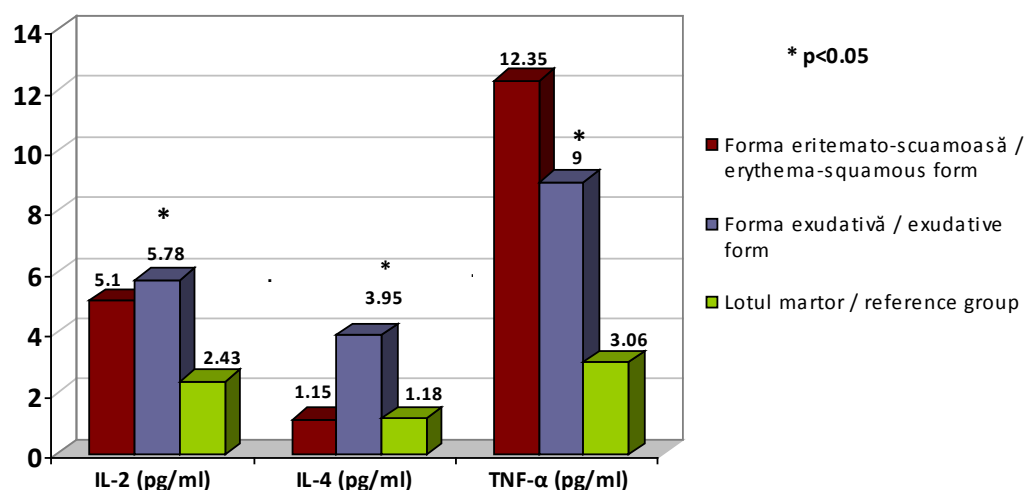


Fig. 2 Valorile medii ale citokinelor circulante la bolnavii cu DA din lotul I (0-2 ani), în funcție de aspectul lezional.
Fig. 2 The mean values of circulating cytokines in patients with AD from group I (age 0-2), according to the lesional aspect.

vat majorarea acestora în toate formele clinice lezionale indicate, comparativ cu lotul martor, inclusiv pentru IL-2 – de 2,7, 2,3, 2,5 și, respectiv, de 3,2 ori; pentru IL-4 – de 4,7, 5, 3,8 și, respectiv, de 4,8 ori; pentru TNF- α – de 3,5, 2,7, 6 și, respectiv, de 3,4 ori (Figura 3).

Sunt de menționat modificările semnificative din lotul II ale ale IL-2 în forma de tip prurigo Besnier și cea lichenificată; ale IL-4 – pentru forma de tip prurigo Besnier și ale TNF- α – pentru forma exudativă, toate – în comparație cu lotul martor. Totodată, analiza nivelelor citokinelor respective din lotul I a constatat creșterea, în comparație cu lotul martor, a IL-2 și IL-4 în forma exudativă și a TNF- α – în forma eritemato-scuamoasă; diferența lor pentru formele lezionale respective fiind ne semnificativă, comparativ cu lotul II.

Valorile medii ale imunoglobulinelor și citokinelor serice în grupele de vârstă (lotul I / lotul II), conform severității DA, în comparație cu lotul martor, sunt prezentate în Tabelul 4.

Analysis of the serum cytokine indices from group II revealed their increase in all indicated lesional clinical forms, compared to the control group, including for IL-2 of 2.7, 2.3, 2.5 and 3.2 times, respectively; for IL-4 – 4.7, 5, 3.8 and 4.8-fold increase, respectively; for TNF- α – of 3.5, 2.7, 6 and 3.4 times respectively (Figure 3).

Noteworthy, there were significant changes in group II with elevation in mean values of IL-2 in Besnier prurigo-type and lichenified group; elevation of IL-4 in Besnier prurigo form and elevated TNF- α in exudative form, as compared to the control group. At the same time, the analysis of the respective cytokine indices in group I shows their increase, compared to the control group for IL-2 and IL-4 in exudative form and an increase in TNF- α in erythematous-squamous form, their difference for the respective lesions being insignificant compared to group II.

The mean values of immunoglobulins and serum cytokines in age groups (group I / group II) according to the severity of

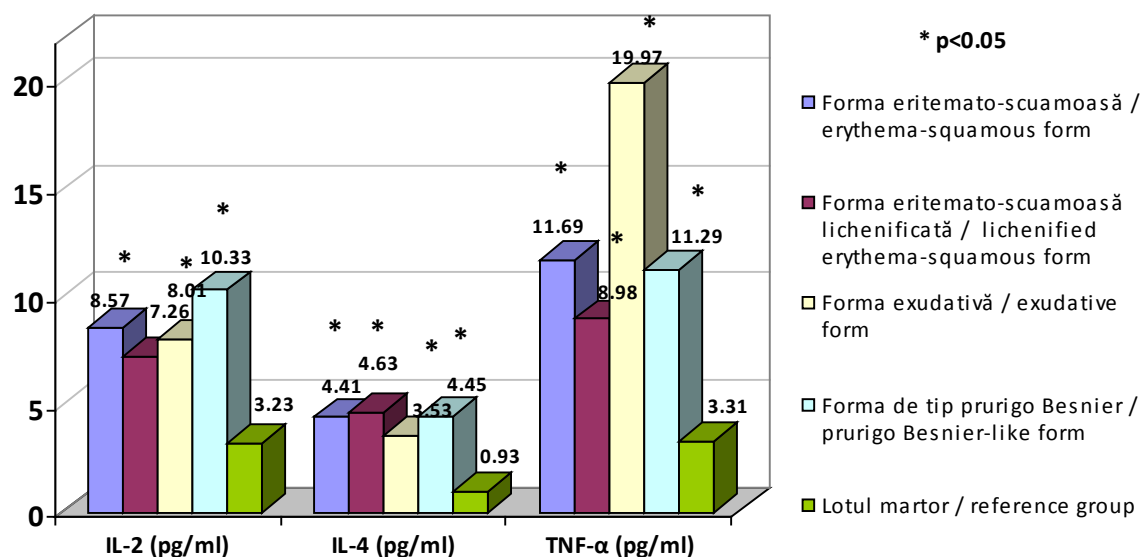


Fig. 3 Valorile medii ale citokinelor circulante la copiii din lotul II (2-18 ani), în funcție de aspectul lezional al dermatitei atopice.
Fig. 3 The mean values of circulating cytokines in children with AD from group II (age 2-18) according to the lesional aspect

Tabelul 4. Nivelele imunoglobulinelor și citokinelor serice, în funcție de severitatea dermatitei atopice.

Table 4. Levels of serum immunoglobulins and cytokines, depending on the severity of atopic dermatitis.

Parametri Parameters	Lotul martor Control group (n=110)		Ușoară Mild (n=23)		Moderată Moderate (n=67)		Gravă Severe (n=20)	
	0-2 ani (n=34)	2-18 ani (n=76)	0-2 ani (n=5)	2-18 ani (n=18)	0-2 ani (n=19)	2-18 ani (n=48)	0-2 ani (n=10)	2-18 ani (n=10)
IgA, g/l	1.48±0.10	1.56±0.08	1.10±0.31**	1.04±0.11*	0.89±0.14*	0.72±0.06*	0.73±0.21*	0.53±0.14*
IgG, g/l	8.33±0.53	10.18±0.30	7.36±2.38**	11.19±0.79**	9.24±1.04**	10.17±0.46**	8.82±1.55**	13.12±1.04*
IgM, g/l	1.06±0.10	1.76±0.21	1.22±0.27**	1.44±0.12**	1.13±0.17**	1.92±0.32**	1.09±0.22**	1.37±0.25**
IgE total, UI/ml	5.67±1.52	25.68±4.16	11.58±5.31**	74.10±19.47*	69.40±24.98*	119.53±16.0*	172.17±44.04*	300.99±98.75*
IL-2, pg/ml	2.43±0.50	3.23±0.46	5.22±2.75**	2.62±0.58**	5.27±1.19*	7.06±1.06*	4.67±1.30**	9.43±1.83*
IL-4, pg/ml	1.18±0.22	0.93±0.15	2.76±1.93**	2.61±0.54*	2.28±0.47*	3.14±0.36*	3.48±0.94*	5.57±1.76*
TNF- α , pg/ml	3.06±0.46	3.31±0.33	5.60±2.11**	8.37±1.86*	10.19±1.93*	11.69±1.23*	7.87±2.17*	18.96±3.40*

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu lotul martor: * – p<0,05; ** – p>0,05.

Note: statistically significant differences compared to the control group: * – p<0.05; ** – p>0.05.

Nivelul seric al IgA s-a dovedit a fi în scădere de 1,7 ori în forma moderată și de 2 ori – în cea gravă, în lotul I. Aceste descreșteri ale IgA s-au înregistrat și în formele evolutive ale lotului II, în comparație cu lotul martor: de 1,4 ori – în forma ușoară, de 2,2 ori – în forma moderată și de 2,9 ori – în forma gravă. Indicatorii pentru IgG și IgM, în toate formele din ambele loturi, au prezentat modificări nesemnificative, comparativ cu lotul martor ($p>0,05$), excepție fiind majorarea de 1,3 ori a IgG în forma gravă a DA la pacienții lotului II.

În Figura 4 este prezentat nivelul seric al citokinelor circulante (IL-2, IL-4, TNF- α) în formele ușoară, moderată și gravă ale DA, în funcție de vârstă (lotul I – 0-2 ani și lotul II – 2-18 ani).

În formele ușoară și moderată a DA, IL-2 a manifestat majorări de 2,2 ori ale concentrației în ambele loturi; iar în forma gravă – de 2,9 ori în lotul II. Nivelul seric al IL-4 a fost crescut de 1,9 ori în forma moderată și de 3 ori ori – în forma gravă a DA la pacienții din lotul I; în lotul II, majorarea IL-4 a fost de 2,8 ori – în forma ușoară, de 3,4 ori – în forma moderată și de 6 ori – în forma gravă. Valorile medii ale TNF- α au crescut de 2,5 în forma ușoară, de 3,5 ori – în forma moderată și de 5,7 ori – în forma gravă a DA la pacienții din lotul II; în cazul lotului I, nivelele TNF- α au fost crescute de 3,3 ori – în forma moderată și de 2,6 ori – în forma gravă.

Conform datelor din Tabelul 5, se relevă o scădere pentru IgA și o creștere pentru IgE totală și citokinele serice (IL-2, IL-4, TNF- α) în toate formele clinice. Creșterea IgE a fost mai exprimată în forma gravă și cea moderată a DA la bolnavii din lotul II.

În formele extrinsecă și intrinsecă ale DA, nivelele imunoglobulinelor serice și citokinelor circulante, în funcție de loturile de studiu, sunt rezentate în Tabelul 5.

Analiza valorilor medii ale IgA denotă o diminuare de 1,5 ori în forma extrinsecă și de 2,2 ori – în forma intrinsecă, pentru lotul I, și de 1,9 și, respectiv, de 2,6 ori, pentru lotul II, în comparație cu lotul martor. În același timp, concentrațiile IgA

AD as compared to the control group are shown in Table 4.

IgA serum levels were 1.7 times lower in moderate form and 2 times lower in the severe group from group I. These IgA decreases were also recorded in the evolutionary form of group II as compared to the control group: 1.4 times in mild form, 2.2 times in moderate form and 2.9 times in severe form. IgG and IgM indices in all forms in both groups showed insignificant changes compared to the control group ($p>0.05$), except for 1.3-fold increase for IgG in the severe form of AD of group II.

Figure 4 shows serum levels of circulating cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) in mild, moderate and severe forms of AD, depending on age (group I – age 0-2 years, group II – age 2-18 years).

In mild and moderate forms of AD, IL-2 increased 2.2 times in both groups and 2.9 times in severe form (group II). The serum level of IL-4 was increased by 1.9 times in moderate form and 3 times in severe form of AD in patients from group I; and in group II the increase was 2.8 times in mild form, 3.4 times in moderate form and 6 times in severe form. The mean values of TNF- α showed a 2.5-fold increase in mild form, 3.5-fold in moderate and 5.7-fold in severe form in patients in group II, respectively elevated by 3.3-fold in moderate form and 2.6 in severe form in patients from group I.

According to the data in Table 5, a decrease for IgA and an increase for total IgE and serum cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) has been noted in all clinical forms. The increase of IgE was more evident in severe and moderate forms of DA in patients from group II.

Levels of serum immunoglobulins and circulating cytokines, in extrinsic and intrinsic forms of AD, depending on study groups, are presented in Table 5.

Analysis of mean IgA values shows a decrease of 1.5 in extrinsic form and 2.2 times in intrinsic form for group I and 1.9

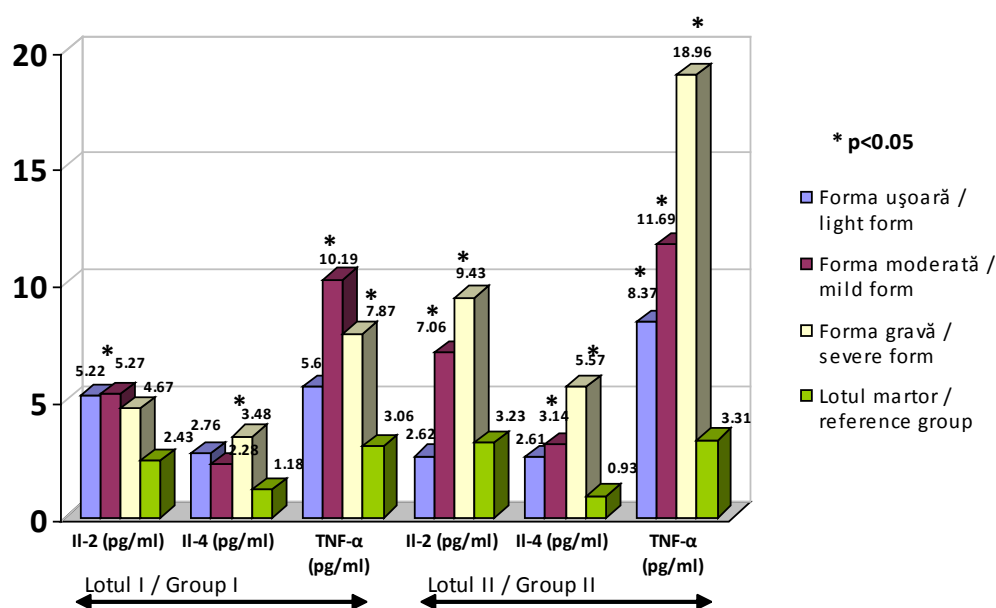


Fig. 4 Valorile medii ale citokinelor serice în lotul I (0-2 ani) și lotul II (2-18 ani), în funcție de severitatea dermatitei atopice.
Fig. 4 The mean serum cytokine values in group I (0-2 years) and group II (2-18 years) according to the severity of atopic dermatitis.

Tablelul 5. Nivelele imunoglobulinelor serice și citokinelor circulante în formele extrinseci și intrinseci ale dermatitei atopice, în funcție de grupele de vârstă.**Table 5.** Values of serum immunoglobulins and circulating cytokines in the extrinsic and intrinsic forms of AD in different age groups.

Parametri Parameters	Lot martor Control group (n=110)		Forma extrinsecă (DAe) Extrinsic form (DAe) (n=65)		Forma intrinsecă (DAi) Intrinsic form (DAi) (n=45)	
	0-2 ani 0-2 years (n=34)	2-18 ani 2-18 years (n=76)	0-2 ani 0-2 years (n=15)	2-18 ani 2-18 years (n=50)	0-2 ani 0-2 years (n=19)	2-18 ani 2-18 years (n=26)
	IgA, g/l	1.48±0.10	1.56±0.08	0.96±0.15*	0.83±0.07*	0.66±0.16*
IgG, g/l	8.33±0.53	10.18±0.30	8.80±1.10**	10.70±0.43**	9.35±1.26**	11.30±0.66**
IgM, g/l	1.06±0.10	1.76±0.21	0.91±0.11**	1.85±0.28**	1.15±0.15**	1.55±0.30**
IgE total, UI/ml	5.67±1.52	25.68±4.16	136.18±29.66*	230.27±25.59*	12.98±2.90*	16.21±2.83**
IL-2, pg/ml	2.43±0.50	3.23±0.46	4.31±1.16**	9.23±1.25*	4.71±1.36**	6.03±1.14*
IL-4, pg/ml	1.18±0.22	0.93±0.15	2.45±0.59*	3.55±0.48*	2.29±0.67**	1.85±0.26*
TNF-α, pg/ml	3.06±0.46	3.31±0.33	8.89±1.87*	15.08±1.08*	9.14±1.41*	16.64±1.84*

Notă: diferențe statistic semnificative în comparație cu lotul martor: *- p<0,05; ** - p>0,05.

Note: statistically significant differences compared to the control group: *- p<0.05; ** - p>0.05.

au fost mai mici de 1,5 ori în forma intrinsecă, comparativ cu cea extrinsecă la pacienții din lotul I și, respectiv, de 1,4 ori – la cei din lotul II, însă diferențele date au fost statistic ne semnificative. Variațiile medii ale IgM și IgG, în ambele loturi, au prezentat modificări ne semnificative.

Cantitatea IgE totală serică în formă extrinsecă, în funcție de vârstă, a fost de 136,18±29,66 UI/ml (lotul I) și de 230,27±25,59 UI/ml (lotul II), fiind mai mare, respectiv, de 24 de ori și de 9 ori, comparativ cu lotul martor. Concentrațiile de IgE totală au fost crescute în lotul II de 1,7 ori, comparativ cu lotul I. În lotul II, pacienții cu formă intrinsecă a DA au prezentat un nivel al IgE totală modificat ne semnificativ, acesta fiind amplificat de 2,3 ori în lotul I, comparativ cu lotul martor.

Concentrația serică medie a IgE totală, în funcție de severitatea maladiei și formele ei clinice, sunt prezentate, respectiv, în Figurile 5 și 6.

and 2.6 times respectively for group II compared to control group. At the same time, IgA indices were less than 1.5 times in intrinsic form compared to extrinsic for group I and 1.4 times respectively for group II, but differences were not statistically significant. The mean variations in IgM and IgG in both groups showed insignificant changes.

Total serum IgE in extrinsic form depending on the age was 136.18±29.66 IU/ml (group I) and 230.27±25.59 IU/ml (group II), being 24 times and 9 times greater comparing to the control group. Total IgE were 1.7 times higher in group II compared to group I. Total IgE level in group II in patients with intrinsic form of AD showed insignificant changes, being 2.3 times higher in group I compared to the control group.

The mean total serum IgE concentration according to the severity and clinical forms of AD is presented, respectively, in Figure 5 and 6.

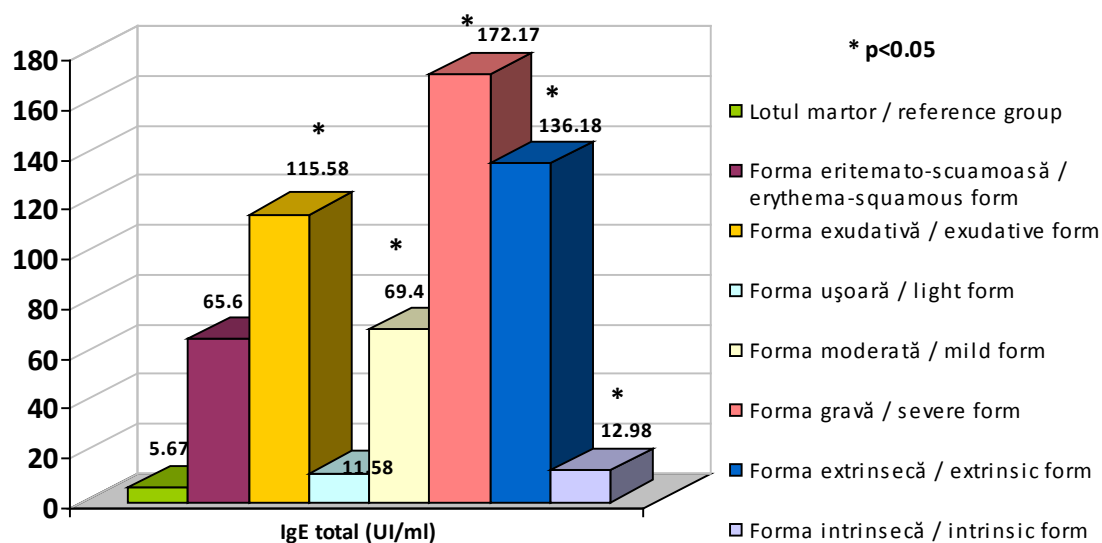


Fig. 5 Valorile medii ale IgE totală la bolnavii cu DA din lotul I (0-2 ani), în funcție de severitatea maladiei și formele ei clinice.

Fig. 5 Mean values of IgE in patients with AD from group I (age 0-2), according to the severity of the disease and its clinical forms.

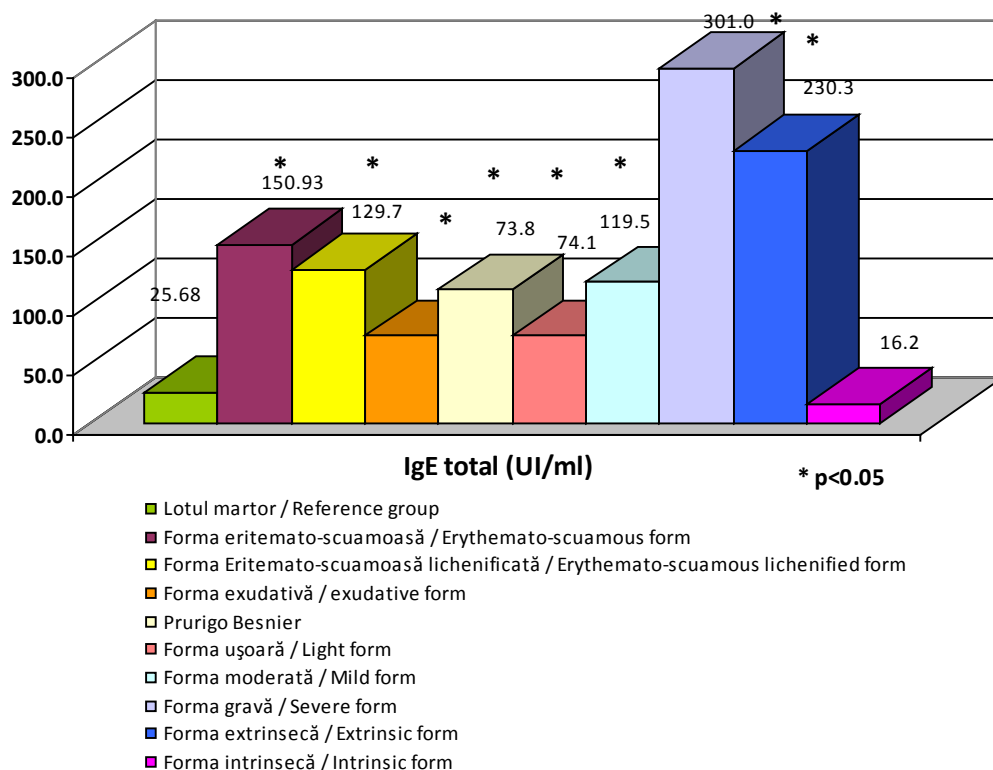


Fig. 6 Valorile medii ale IgE totală la bolnavii cu DA din lotul II (2-18 ani), în funcție de severitatea bolii și formele ei clinice
Fig. 6 Mean values of total IgE in patients with AD from group II (age 2-18), according to the severity of the disease and its clinical forms.

S-a constatat majorarea valorilor medii ale IL-4 și TNF- α de 2,1 ori și, respectiv, de 2,9 ori în formă extrinsecă (lotul I), comparativ cu lotul martor. Valorile IL-2 au variat nesemnificativ (Figura 7).

Niveul seric al IL-2, IL-4, TNF- α , la pacienții cu DA extrinsecă din lotul II, a fost mărit de 2,9 ori, 3,8 ori, și, respectiv, de 4,6 ori vs. lotul martor; comparativ cu lotul I, valorile date au fost mai mari față de lotul I de, respectiv, 2,1 ori, 1,5 ori și de 1,7 ori.

Totodată, în lotul I s-a observat creșterea semnificativă a valorilor medii ale TNF- α : de 3 ori – în forma intrinsecă (însă nu și pentru IL-2 și IL-4), comparativ cu lotul martor. În lotul II, valorile medii ale IL-2, IL-4, TNF- α la bolnavii cu DA intrinsecă au fost amplificate de 1,9 ori, de 2 și, respectiv, de 5 ori, în comparație cu lotul martor. IL-2 și TNF- α au fost crescute de 1,3 ori și, respectiv, de 1,8 ori, în comparație cu lotul I. În același timp, IL-4 a scăzut de 1,2 ori la copiii cu vârsta de peste 2 ani, cu forma intrinsecă a DA.

Valorile concentrațiilor IgE totală, IL-2, IL-4 și TNF- α au fost supuse analizei corelaționale (*Spearman's rho test*), în funcție de formele lezionale, severitate, de natura extrinsecă sau intrinsecă a DA. Au fost evidențiate următoarele corelații pozitive, statistic semnificative: IgE/IL-4 în forma gravă și forma intrinsecă ($rs=0,42/0,46$) din lotul I și în forma eritemato-scuamoasă ($rs=0,45$) din lotul II.

IgE/IL-2 din lotul II – în forma eritemato-scuamoasă cu lichenificări, cea de tip prurigo Besnier, în forma moderată și cea gravă (respectiv, $rs=0,41/0,40/0,42/0,38$); IgE/TNF- α – în forma extrinsecă ($rs=0,51$).

The mean values of IL-4 and TNF- α were 2.1-fold and 2.9-fold higher in the extrinsic form (group I) compared with the control group, with IL-2 being insignificant (Figure 7).

Serum levels of cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) in patients with extrinsic AD in group II were increased by 2.9 fold, 3.8-fold and 4.6-fold respectively, with an increase of 2.1 times, 1.5 times, and 1.7 times compared to group I.

At the same time, a significant increase in mean values of TNF- α was recorded in group I in 3-fold in the intrinsic form, but not for IL-2 and IL-4 as compared to the control group. In group II mean values of serum cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) in patients with intrinsic AD, were increased by 1.9-fold, 2-fold and 5-fold respectively compared to the control group for IL-2 and TNF- α increasing 1.3-fold and 1.8-fold, respectively, compared to group I. At the same time, IL-4 decreases 1.2 times in children older than the age of 2 years in the intrinsic form.

Concentration's values of total IgE, IL-2, IL-4 and TNF- α were subjected to analysis with the Spearman's rho test, according to lesional forms, severity, extrinsic or intrinsic nature of AD. The following statistically significant positive correlations have been highlighted: IgE/IL-4 in severe form and intrinsic form ($rs=0.42/0.46$) from group I and erythematous form ($rs=0.45$) from group II.

IgE/IL-2 in erythematous form with lichenification (prurigo Besnier type), moderate form, severe form ($rs=0.41/0.40/0.42/0.38$ respectively) of group II. IgE/TNF- α in extrinsic form ($rs=0.51$).

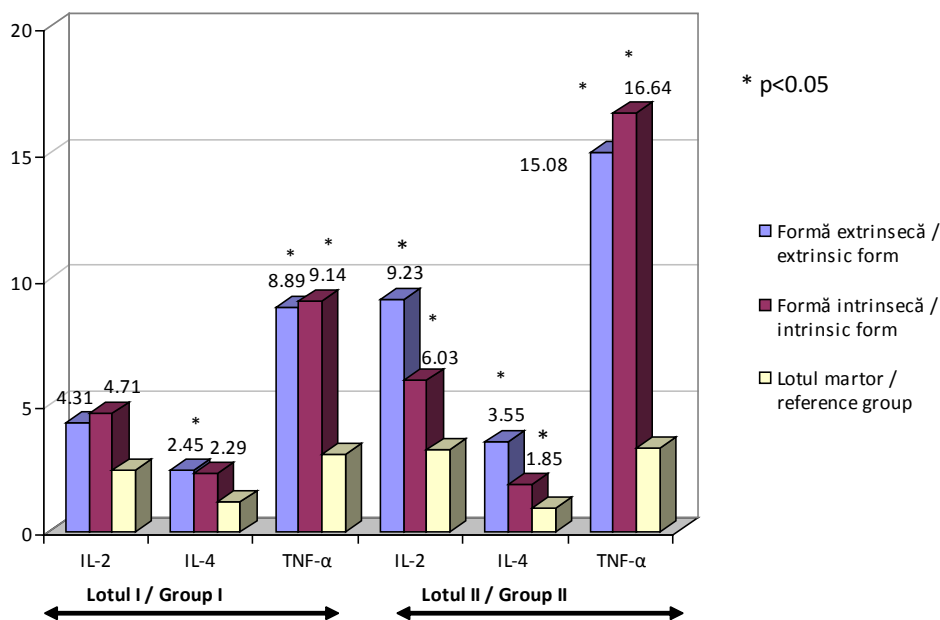


Fig. 7 Nivelul citokinelor circulante în formele extrinsecă și intrinsecă ale dermatitei atopice.
Fig. 7 Level of circulating cytokines in extrinsic and intrinsic forms of atopic dermatitis.

IL-2/IL-4 – în forma eritemato-scuamoasă cu lichenificări din lotul II ($rs=0,45$) și în forma exudativă din lotul I ($rs=0,53$).

IL-2/TNF- α – în forma de tip prurigo Besnier ($rs=0,40$) din lotul II; IL-4/TNF- α – în forma eritemato-scuamoasă ($rs=0,50$) din lotul I.

Corelații negative notabile s-au constatat: IL-4/TNF- α – în forma extrinsecă ($rs=-0,35$) din lotul I; IL-4/TNF- α – în forma exudativă, forma de tip prurigo Besnier ($rs=-0,56/-0,44$) din lotul II și în forma extrinsecă ($rs=-0,35$) din lotul I. IgE/TNF- α – în forma gravă ($rs=-0,55$) și în forma intrinsecă ($rs=-0,31$) din lotul II.

Discuții

Dermatita atopică se caracterizează prin dezechilibrul răspunsului imun Th2 și Th1 [19, 21]. Evoluția imunopatologică de tip Th2 și Th1 în DA este complicată, rezultatele studiilor privind expresia răspunsului imun fiind controversate [31, 32, 33].

Studiul nostru a avut drept scop evaluarea modificărilor cantitative ale nivelurilor imunoglobulinelor (IgA, IgG, IgM și IgE totală) și ale profilului citokinic (IL-2, IL-4, TNF- α) în serul bolnavilor cu DA, pe grupe de vârstă, conform severității maladiei (indicele SCORAD), formelor clinice lezionale și cele extrinseci/intrinseci.

În unele studii clinice, efectuate pe un lot de bolnavi cu DA infantilă (până la 3 ani) în stadiul de acutizare [34] și în formele grav/moderate [35], s-a constatat scăderea nivelului seric al imunoglobulinelor claselor IgA, IgG și IgM, precum și creșterea IgE totale [34]. Datele altor autori au constatat scăderea nivelului IgA și creșterea IgE, în concordanță cu indicele SCORAD, la bolnavii cu vârste cuprinse între 2 și 18 ani, în stadiul de acutizare al maladiei [28, 35, 36]. Studiile mai recente, realizate la bolnavii cu DA diseminată și gravă (vârste de 5-10 ani), au relevat majorarea IgG și IgM, asociată cu o creștere evidentă și

IL-2/IL-4 in erythemato-squamous form with lichenifications of group II ($rs=0.45$) and in exudative form from group I ($rs=0.53$).

IL-2/TNF- α in Besnier prurigo form ($rs=0.40$) from group II. IL-4/TNF- α in erythemato-squamous form ($rs=0.50$) from group I.

Notable negative correlations were found: IL-4/TNF- α in extrinsic form ($rs=-0.35$) from group I; IL-4/TNF- α – in exudative form, Besnier prurigo type ($rs=-0.56/-0.44$) from group II and in extrinsic form ($rs=-0.35$) from group I. IgE/TNF- α – in severe form ($rs=-0.55$) and in intrinsic form ($rs=-0.31$) from group II.

Discussion

Atopic dermatitis is characterized by the Th2 and Th1 immune response imbalance [19, 21]. Immunopathological evolution of Th2 and Th1 type in AD is complicated, the results of immune response expression studies being controversial [31, 32, 33].

Our study aimed at evaluating the quantitative changes in immunoglobulin levels (IgA, IgG, IgM and total IgE) and the cytokine profile (IL-2, IL-4, TNF- α) in blood serum in AD patients, according to age groups and according to the severity of the disease (SCORAD index) and to lesional and extrinsic/intrinsic clinical forms.

In some clinical trials performed on groups of patients with infantile AD (under 3 years) in acute stage [34] and in severe/moderate forms [35], blood serum levels of immunoglobulins of the IgA, IgG and IgM class, as well as the increase in total IgE has been noted [34]. Data from other authors found increased levels of IgA and IgE in accordance with the SCORAD index in patients aged 2-18 years at the stage of acute illness [28, 35, 36]. More recent studies among patients with disseminated

pentru IgE [37]. Un alt studiu clinic, realizat pe un lot de bolnavi cu DA grav/moderată, exudativă și eritemato-scuamoasă (vârste de 5-18 ani), au constatat o creștere evidentă a nivelului seric de IgE totală, fără schimbări semnificative ale IgA, IgM și IgG [37].

Datele proprii au demonstrat micșorarea nivelului de IgA la bolnavii cu vârsta peste 2 ani și creșterea celui de IgE totală la copii de până la 2 ani cu DA, devierile date fiind mai evidente în forma exudativă și cea gravă a maladiei. Valorile IgG și IgM au prezentat modificări nesemnificative. Deficitul constat al IgA în DA, care se amplifică în funcție de gravitate și vârstă, în asociere cu majorările respective ale IgE totală, este o dovadă a diminuării rolului protector, antialergen, de barieră, inclusiv la nivelul mucoaselor, pentru IgA, sub influența sensibilizatoare sistemică a IgE.

În studiile efectuate, s-a constatat un nivel seric net superior al IL-4 (răspuns imun al Th2) în DA extrinsecă [19], în comparație cu devierile respective în DA intrinsecă [2, 24]. Unii autori au constatat creșterea nivelului seric al IL-4 [31, 38, 39] proporțional gradului de severitate SCORAD, inclusiv la bolnavii cu DA diseminată și complicată [38]. Alte studii confirmă lipsa modificărilor semnificative pentru IL-2 și IL-4 la bolnavii cu DA cu vârste diverse, inclusiv în fazele acute/subacute ale DA [29], precum și în formele severe și extrinsece [33, 35, 40]. Totodată, rezultatele proprii au constatat majorări semnificative ale IL-4 și IL-2, în funcție de severitatea maladiei, acestea fiind mai evidente la bolnavii în vârstă de peste 2 ani, cu forme grave și lichenificate ale DA.

Nivelul seric al citokinelor proinflamatorii (IL-2, TNF- α), care determină răspunsul Th1, se prezintă divers în studiile de rigoare efectuate. Astfel, s-a constatat majorarea nivelului de IL-2 și TNF- α în funcție de scorul SCORAD [36, 39]. Creșterea nivelului seric al IL-2 s-a atestat în DAi [41]. Unii autori au relevat lipsa schimbărilor corelative ale TNF- α cu valoarea scorului SCORAD, vârstei, sexului și nivelului de IgE totală (forma extrinsecă și forma intrinsecă) [33, 36]. În alte studii, s-a constatat lipsa diferențelor semnificative pentru TNF- α , atât în stadiul de acutizare, cât și în stadiul de remisiune a maladiei [31, 34]. Datele unor autori au relevat creșterea nivelului de TNF- α la bolnavii cu evoluție gravă a DA, atât în acutizare, cât și în remisiune [37, 38, 39].

Astfel, rezultatele obținute în studiul nostru denotă faptul că citokinele răspunsului celular Th1 (IL-2, TNF- α) sunt în creștere la bolnavii cu vârsta de peste 2 ani, cu DA gravă.

Majorarea acestora a fost mai evidentă pentru TNF- α în forma exudativă și intrinsecă a DA, iar pentru IL-2 – în forma de tip prurigo Besnier și cea extrinsecă.

Constatarea corelațiilor pozitive semnificative dintre IgE totală serică și IL-4, atât în forma severă din lotul I, cât și în forma eritemato-scuamoasă și forma eritemato-scuamoasă lichenificată din lotul II, denotă dominarea răspunsului imun de tip Th2 la pacienții atopici de toate vârstele. Totodată, devierile de vârstă ale IL-4 au prezentat o tendință de creștere în forma extrinsecă și una de scădere – în forma intrinsecă. În DA, s-a evidențiat caracterul bifazic umoral (Th2) și celular (Th1) al răspunsului imun, în funcție de vârstă. Astfel, odată cu dezvoltarea formelor infiltrative lichenificate ale DA după

and severe AD (ages 5-10 years) reveal an increase in IgG and IgM, associated with an apparent increase for IgE as well [37]. Another clinical trial in a group of patients with severe/moderate, exudative and erythematous forms of AD (5-18 years of age) experienced a clear increase in serum total IgE without significant changes in IgA, IgM and IgG [37].

Our own data demonstrated the reduction of IgA indices in patients over the age of 2 years and their increase for total IgE in those up to 2 years, the deviations being more obvious in exudative and serious forms. The IgG and IgM levels showed insignificant changes. The observed deficiency of IgA in AD, which is amplified by severity and age, in association with respective increases in total IgE, serves as an evidence of the diminishing role of protective, antiallergenic, barrier, even at the mucosal level, of the IgA under the influence systemic sensitizers of IgE.

In the performed studies, a net superior serum level of IL-4 (Th2 immune response) was found in extrinsic AD [19] compared to the respective deviations in intrinsic AD [2, 24]. Some authors noted the elevation of serum IL-4 [31, 38, 39] according to the degree of severity of SCORAD, including in patients with disseminated and complicated AD [38]. Other studies confirm the lack of significant changes in IL-2 and IL-4 in AD patients of various ages, including acute/subacute AD [29], and in severe and extrinsic forms [33, 35, 40]. At the same time, our own results show significant increases in IL-4 and IL-2 according to the severity of the disease, which are superior in patients aged over 2 years with severe and lichenified forms of AD.

Serum levels of pro-inflammatory cytokines (IL-2, TNF- α) responsible for the Th1 response are diverse in rigorous studies. Thus, there is an increase in the IL-2 and TNF- α levels according to SCORAD severity [36, 39]. The elevation of serum IL-2 is found in ADi [41]. Some authors reveal the lack of correlative changes in TNF- α according to the SCORAD index, age, gender and total IgE level (extrinsic form and intrinsic form) [33, 36]. In other studies, there was a lack of significant differences in TNF- α at both the acute and remission stage of the disease [31, 34]. The data of some authors reveal the amplification of TNF- α in patients with severe evolution of AD both in acute stage and remission [37, 38, 39].

Thus, the results obtained in our study indicate that the cytokines of Th1 cell response (IL-2, TNF- α) are increasing in patients over 2 years for severe AD, the increase being more evident for TNF- α in exudative, intrinsic form and for IL-2 in extrinsic prurigo Besnier type.

The finding of significant positive correlations between serum total IgE and IL-4 in both severe form from group I and erythematous-squamous form and lichenified erythematous-squamous forms from group II shows the dominance of Th2-type immune response in atopic patients in all ages. At the same time, the age deviations of IL-4 exhibit a growing trend in extrinsic form and a decrease in intrinsic form. In AD, there is a biphasic character of immune response (Th2) and cellular response (Th1) according to age. Thus, with the development of the lichenified infiltrative forms of AD after 2 years of age, there is a significant increase in the Th1 cell response cytoki-

vârsta de 2 ani, se constată o creștere semnificativă a citokinelor răspunsului celular Th1, confirmată și de corelațiile pozitive dintre IL-2 și TNF- α , dar și de cele negative dintre IL-4 și TNF- α , precum și dintre IgE totală și TNF- α , în anumite forme clinice. Creșterea ușoară a nivelului seric de IL-4 (Th2), comparativ cu citokinele proinflamatorii TNF- α și IL-2 (Th1), se datorează, probabil, unui răspuns compensator, de concurență Th2/Th1, la copiii cu un istoric mai mare de 2 ani al dermatitei atopice, având leziuni infiltrative lichenificate.

Concluzii

1) Studiul efectuat la bolnavii cu DA, în funcție de vârstă, a constatat micșorarea nivelului de IgA, creșterea nivelurilor de IgE totală și ale citokinelor serice (IL-2, IL-4, TNF- α), comparativ cu lotul martor. Devierile respective au fost exprimate, mai evident, la bolnavii cu vârsta de peste 2 ani, în formele gravă și moderată ale DA.

2) S-a constatat majorarea evidentă pentru TNF- α și mai puțin exprimată pentru IL-2, acestea fiind în creștere odată cu vârstă, iar corelațiile pozitive semnificative dintre citokinele menționate constată persistența răspunsului inflamator cronic Th1.

3) S-a observat că nivelul seric al IL-4 este constant majorat în toate grupele de vârstă și formele clinice ale DA, fapt ce determină caracterul universal al markerului respectiv în stabilirea fenomenului atopic.

4) S-au evidențiat corelații semnificative ale creșterii IL-4 cu cele ale IgE, în special, în formele severe ale DA (răspuns Th2).

5) Nu a fost evidențiată, în schimb, o diferență notabilă a citokinelor IL-2, IL-4, TNF- α și a imunoglobulinelor serice (IgA, IgG, IgM) în funcție de grupele de vârstă la bolnavii cu DA extrinsecă și DA intrinsecă

6) S-a constatat o tendință de evoluție bifazică a răspunsului imun care, în formele incipiente (sub 2 ani), eritemato-scumose și exudative, extrinsece, este preponderent de tip Th2 (majorarea IgE, IL-4); ulterior, în formele de stare (peste 2 ani), cu lichenificare, intrinsece, răspunsul Th2 este asociat cu cel al Th1 (majorarea TNF- α , IL-2), producând, finalmente, rezultate controversate și de concurență ale răspunsului limfocitic combinat, Th2/Th1.

7) Analiza clinico-imunologică a indicatorilor statutului imun permit conștientizarea procesului patologic și selectarea remediilor potrivite de imunocorecție.

Declarația de conflict de interes

Nimic de declarat.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la realizarea studiului și la scrierea manuscrisului.

nes, confirmed by the positive correlations between IL-2 and TNF- α but also by the negative interactions between IL-4 and TNF- α as well as between total IgE and TNF- α in certain clinical forms. The slight increase in serum IL-4 (Th2) compared to the pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-2 (Th1) is possibly due to a Th2/Th1-compliant compensatory response in children with a history of 2 years of atopic dermatitis with lichenified infiltrative lesions.

Conclusions

1) The study performed in AD patients, according to age groups revealed a decrease in IgA levels, increase for total IgE and serum cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) compared to the control group. These deviations being expressed more evident in patients over 2 years of age in the severe/moderate forms of AD.

2) The apparent increase for TNF- α , and less expressed for IL-2 was found to be increasing with age, and significant positive correlations between the cytokines demonstrates the Th1 chronic inflammatory response.

3) It has been observed that the serum levels of IL-4 are constantly increased in all age and clinical forms of AD, ensuring its universal character in establishing of the atopic phenomenon.

4) Significant correlations between the elevations of IL-4 and IgE have been shown, particularly manifested in severe AD forms (Th2 response).

5) A notable difference in cytokines (IL-2, IL-4, TNF- α) and serum immunoglobulin (IgA, IgG, IgM) has not been found in different age groups in patients with extrinsic DA and intrinsic DA.

6) A biphasic evolutionary tendency of the immune response has been found, which is predominantly of the Th2 type (increase of IgE, IL-4) in the early (under 2 years), erythematous-scumose and exudative, extrinsic forms (Th2/Th1 increase); which, eventually, in active forms (more than 2 years) with lichenification and intrinsic forms tends to have a Th2 response associated with Th1 response (increased TNF- α , IL-2), resulting in controversial results and concurrence of the combined Th2/Th1 lymphocyte response.

7) The clinical-immunological analysis of the immune status indices allow to identify the underlying pathological process and possibilities for immune therapy.

Conflict of interest

Nothing to declare

Authors' contribution

All authors have contributed equally in the study and writing of the manuscript.

Referințe / references

1. Spergel J. Epidemiology of atopic dermatitis and atopic march in children. *Immunol. Allergy Clin. North. Am.*, 2010; 30: 269-280.
2. Flohr C., Mann J. New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis. *Allergy*, 2014; 69: 3-16.
3. Nutten S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2015; 66: 8-16.
4. Silverberg J., Hanifin J. Adult eczema prevalence and associations with asthma and other health and demographic factors: a US population-based study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 132: 1132-8.
5. Marenholz I., Nickel R., Ruschendorf F., Schulz J., Esparza-Gordillo T. *et al.* Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 13: 478-486.
6. Boguniewicz M., Leung D. Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunol. Rev.*, 2011; 242: 233-246.
7. Eyerich K., Novak N. Immunology of atopic eczema: overcoming the Th1/Th2 paradigm. *Allergy*, 2013; 68: 974-982.
8. Guttman-Yassky E., Nograles K., Krueger J. Contrasting pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis. Part II: Immune cell subsets and therapeutic concepts. *The journal of allergy and clinical immunology*, 2011; 127 (6):1420-1432.
9. Peng W., Novak N. Pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin. Exp. Allergy*, 2015; 45: 566-574.
10. Gittler J., Shemer A., Suarez-Farinas M. *et al.* Progressive activation of T(H)2/T(H)22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis. *The journal of allergy and clinical immunology*, 2012; 130 (6): 1344-1354.
11. Turner M., Travers J., Kaplan M. T helper cell subsets in the development of atopic dermatitis. *Journal of drugs in dermatology*, 2012; 11 (10): 1174-1178.
12. Altrichter S., Kriehuber E. *et al.* Serum IgE autoantibodies target keratinocytes in patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.*, 2008; 128: 2232-9.
13. Novak N., Valenta R., Bohle B. *et al.* Fc-epsilonRI engagement of Langerhans cell-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes *in vitro*. *The journal of allergy and clinical immunology*, 2004; 113 (5): 949-957.
14. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD Index (Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis). *Dermatology*, 1993; 186: 23-32.
15. Akdis C., Akdis M., Bierber T., Bindslev-Jensen C., Eigenmann P., Hamid Q. *et al.* Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults. European Academy of Allergology and Clinical Immunology/American Academy of Allergy. Asthma and Immunology PRACTALL Consensus Report. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 61: 969-987.
16. Saeki H., Lizuka H., Mori Y. *et al.* Prevalence of atopic dermatitis in Japanese elementary schoolchildren. *Br. J. Dermatol.*, 2005; 152 (1): 110-114.
17. Zheng T., Yu J., Oh M., Zhu Z. The atopic march: progression from atopic dermatitis to allergic rhinitis and asthma. *Allergy Asthma Immunol. Res.*, 2011; 3: 67-7.
18. Suarez-Farinas M., Dhingra N. *et al.* Intrinsic atopic dermatitis (AD) shows similar Th2 and higher Th17 immune activation compared to extrinsic AD. *The journal of allergy and clinical immunology*, 2013; 132 (2): 361-370.
19. Novak N., Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 112: 252-262.
20. Tokura Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J. Dermatol.*, 2010; 58 (1): 1-7.
21. Bieber T. Mechanisms of disease: atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 358: 1483-94.
22. Leung D. New insights into atopic dermatitis: role of skin barrier and immune dysregulation. *Allergol. Int.*, 2013; 62: 151-161.
23. Ring J., Weidinger S., Darsow U., Behrendt H. IgE vs. non-IgE related atopic eczema. International Symposium Update on Atopic Eczema. Dermatitis Syndrome. Book of Abstracts. *Acta Dermatovenerologica (Croatia)*, 2004; 12: 111.
24. Akdis C., Akdis M., Simon D., Dibbert B., Weber M., Gratzl S. *et al.* T cells and T cell derived cytokines as pathogenic factors in the nonallergic form of atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.*, 1999; 113: 628-634.
25. Boyman O., Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012; 12: 180-190.
26. Noh G., Lee J. Atopic dermatitis and cytokines: the immunoregulatory and therapeutic implications of cytokines in atopic dermatitis. Part II: negative regulation and cytokine therapy in atopic dermatitis. *Recent pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.*, 2012; 6 (3): 248-61.
27. Huang J., Lee W., Chen L. Changes of serum levels of IL-2, intercellular adhesion molecule-1, endothelial leukocyte adhesion molecule-1 and Th1 and Th2 cell in severe atopic dermatitis after intravenous immunoglobulin therapy. *Ann. Allergy. Asthma. Immunol.*, 2000; 84 (3): 345-52.
28. Vakirlis E., Lazaridou E., Tzellos T. *et al.* Investigation of cytokine levels and their association with SCORAD index in adults with acute atopic dermatitis. *J. of the Europ. Academy of Dermatol. and Venereol.*, 2010; 25: 409-416.
29. Чуслева А. А. Клинико-патогенетическое значение цитокинов и медиаторов аллергического воспаления у детей с атопическим дерматитом. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Москва, 2013; 24 с.
30. Hanifin J., Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Dermatovener. (Stokholm)*, 1980; 92 (Suppl): 44-47.
31. Волкова Е. Н., Морозов С. Г., Тарасова М. В. *et al.* Исследование уровня циркулирующих цитокинов у больных атопическим дерматитом. *Вестник дермат. и венерол.*, 2014; 2: 26-30.
32. Волошина М. А. Клинико-иммунологическая эффективность наружного лечения при атопическом дерматите. *Автореф. дисс. канд. мед. наук. Москва, 2015; 22 с.*
33. Сормологова И. Н. Показатели иммунитета и качества жизни у школьников Забайкалья. *Автореф. дисс. канд. мед. наук. Москва, 2013; 21 с.*
34. Галанина А. В. Иммуногенетические параметры изменения клинико-лабораторных показателей и их коррекция при атопическом дерматите у детей раннего возраста: *Автореф. дис. д-ра. мед. наук. Пермь, 2008; 36 с.*
35. Тарбеева О. Н. Иммунные нарушения и их коррекция при младенческой форме атопического дерматита. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Архангельск, 2013; 18 с.
36. Цораева, З. А. Нарушение местного и системного иммунитета при атопическом дерматите у детей и совершенствование тактики его лечения. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Москва, 2007; 26 с.
37. Илек Я. Ю., Зайцева Г. А., Галанина А. В. *et al.* Иммуномодулирующий и противорецидивный эффекты озонотерапии при атопическом дерматите у детей дошкольного и младшего возраста. *Современные технологии в медицине*, 2013; 2 (5): 89-92.
38. Булина О. В., Горланов И. А., Калинина Н. М. Параметры цитокинового звена иммунитета у детей старшего возраста при атопическом дерматите. *Аллергология*, 2004; 1: 27-30.
39. Козулин Е. Е. Эффективность даларгина и кремнеземной корнеотерапии при атопическом дерматите и их влияние на регуляторные нейропептиды и цитокины. *Автореф. дисс. канд. мед. наук. Хабаровск, 2009; 19 с.*
40. Платонова А. Н. Узкополостное средневолновое Уф-излучение в комплексном лечении детей, больных атопическим дерматитом. *Автореф. дисс. канд. мед. наук. Москва, 2010; 18 с.*
41. Ricci G., Patrizi A., Bellini F. *et al.* Cytokines levels in children affected by atopic and nonatopic eczema. *The Open Dermatology Journal*, 2008; 2: 18-21.